



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

GUILHERME AUGUSTO ALVES

AUTOECOLOGIA DE *Megaelosia apuana* (ANURA; HYLODIDAE)

***Megaelosia apuana* (ANURA; HYLODIDAE) AUTOECOLOGY**

CAMPINAS

2018

GUILHERME AUGUSTO ALVES

AUTOECOLOGIA DE *Megaelosia apuana* (ANURA; HYLODIDAE)

Megaelosia apuana (ANURA; HYLODIDAE) AUTOECOLOGY

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, na área de concentração em Biodiversidade Animal.

Dissertation presented to the Institute of Biology of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Animal Biology, in the area of Animal Biodiversity.

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA
PELO ALUNO GUILHERME AUGUSTO ALVES E
ORIENTADA PELO PROF. DR. LUÍS FELIPE DE
TOLEDO RAMOS PEREIRA.

Orientador: PROF. DR. LUÍS FELIPE DE TOLEDO RAMOS PEREIRA

CAMPINAS

2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CAPES

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4113-780X>

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

Au45a Augusto-Alves, Guilherme, 1993-
Autoecologia de *Megaelosia apuana* (Anura; Hylodidae) / Guilherme Augusto Alves. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Luís Felipe de Toledo Ramos Pereira.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Anuro – Comportamento. 2. Comunicação visual. 3. Girino. 4. Cadeias alimentares (Ecologia). 5. Padrão de atividade. I. Toledo, Luís Felipe, 1979-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: *Megaelosia apuana* (Anura; Hylodidae) autoecology

Palavras-chave em inglês:

Anura - Behavior

Visual communication

Tadpoles

Food chains (Ecology)

Activity pattern

Área de concentração: Biodiversidade Animal

Titulação: Mestre em Biologia Animal

Banca examinadora:

Luís Felipe de Toledo Ramos Pereira [Orientador]

Vinícius Matheus Caldart

Itamar Alves Martins

Data de defesa: 22-02-2018

Programa de Pós-Graduação: Biologia Animal

Campinas, 22 de fevereiro de 2018

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Luís Felipe de Toledo Ramos Pereira

Dr. Vinícius Matheus Caldart

Prof. Dr. Itamar Alves Martins

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

Dedico esse trabalho aos meus pais, Marlene e José
que me apoiam em todas as minhas decisões,
mesmo que essas, nem sempre, sejam tão claras para eles.

O nome Caparaó
eu vou lhe dizer agora
é um nome indígena
sobre as águas que rolam
este é o nome próprio conhecido da história.

Rio Caparaó
um encontro de beleza
todo calçado de pedra
uma grande fortaleza
tem as piscinas nas pedras
feitas pela natureza.

Arydes Grimalde

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço meu orientador Felipe Toledo, pela oportunidade e por todo conhecimento transmitido.

Agradeço aos professores e pesquisadores que participaram das bancas de avaliações dessa dissertação (qualificação, pré-banca e defesa), contribuindo com dicas e comentários para melhoria do trabalho: Dr. André Rinaldo Senna Garraffoni (qualificação); Dr. Flávio César Thadeo de Lima (qualificação); Dr. Itamar Alves Martins (defesa); Dra. Luciana Bolsoni Lourenço (pré-banca); Dra. Michela Borges (qualificação); Dr. Vinícius Matheus Caldart (pré-banca e defesa); Dr. Wesley Rodrigues Silva (pré-banca).

Agradeço aos colegas, Leandro Tacioli, Carolina Lambertini, Camila Zornosa Torres, Bruna Christina Dias, Alexandre Bertolazzi e Luísa Ribeiro pela ajuda com o trabalho de campo.

Agradeço ao Dr. Flávio César Thadeo de Lima e ao Dr. Jean Carlo Mari Fanton pela assistência e dedicação em que me ajudaram na identificação dos organismos.

Agradeço à Cecília Bardier e Simone Aparecida Dena pela contribuição direta nesse trabalho, assim como todo o conhecimento transmitido.

Agradeço à Anat Belasen, Camila Zornosa Torres e Simone Dena pelo auxílio, nas correções e revisões dos meus textos em inglês.

Agradeço aos funcionários da Universidade Estadual de Campinas (técnicos, funcionários da manutenção, da limpeza, do restaurante universitário, dentre outros) e aos funcionários da empresa de transporte público de Campinas. Sem a ajuda de vocês a realização de minha pesquisa, assim como diversas outras, seria inviável.

Agradeço aos companheiros de LaHNAB (Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros), Anat; Camila, Carlão, Carol, Cecília, Davi, Felipe, Felipe Andrade, Isa, Joice, Leandro, Lucas, Mari Bd, Mari Brachy, Ricardo, Ronaldo, Rose e Simone.

Agradeço aos companheiros do LabEsc (Laboratório de Estudos Cromossômicos), Alexandra, Ariane, Kaleb, Letícia, Marcos, Renata Alitto, Renata Tenório, Stenio, Tobias, Willian e principalmente a Karin, por me acolherem e me ensinarem, com muita paciência sempre. E a professora Luciana, que além de permitir o uso de seu laboratório, está sempre presente com dicas e ensinamentos.

Agradeço à Tatiana Steiner, por ter me encorajado a iniciar o mestrado, além da preocupação e apoio durante o decorrer desses dois anos.

Agradeço aos meus amigos da Fonoteca (e agregados), Camila, Juliana, Leandro, Mari Brachy, Patrícia, Ronaldo, Rose, Simone, com a convivência diária, aprendi muito com vocês.

De forma geral, agradeço a todos os meus amigos, sempre presentes em todas as etapas.

Agradeço à Amanda e Larissa, pela companhia e força, sempre.

Agradeço à minha família, principalmente aos meus pais, pelo suporte diário.

Agradeço ao setor administrativo, principalmente ao Waldomiro de Paula Lopes, aos guardas e aos brigadistas do Parque Nacional do Caparaó e Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), pela permissão de acesso ao parque, desenvolvimento e suporte logístico para realização da pesquisa (SISBio #52352-2).

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP #2014/23388-7; 2016/25358-3) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq #300896/2016-6), pelo auxílio financeiro ao projeto. E à

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

Por fim, agradeço as políticas públicas implementadas em nosso país, principalmente do programa PROUNI (Programa Universidade para Todos), por dar a oportunidade do ensino superior a um número maior de brasileiros. Sem tal auxílio minha graduação não seria possível, por isso é muito triste ver essas e outras oportunidades sendo fechadas.

RESUMO

O gênero *Megaelosia* compreende espécies de rãs de corredeira endêmicas da Mata Atlântica. Espécies desse grupo apresentam populações com baixa densidade de indivíduos, possuem distribuição restrita, comportamento críptico, são ariscas e mudas, o que dificulta a obtenção de dados sobre a história natural de todo o gênero, refletindo na baixa quantidade de estudos disponíveis. Com o objetivo de contornar esse cenário, nós acompanhamos a população de *M. apuana* do Parque Nacional do Caparaó (PNC), entre outubro de 2015 e janeiro de 2017, afim de obter informações sobre a história natural da espécie em diferentes fases do desenvolvimento. Para coleta de dados de captura e recaptura, utilizamos o método de foto-identificação do padrão de manchas da cauda dos girinos, uma vez que este padrão é estável até a fase de imago. Os girinos apresentaram atividade durante todo o ano, prioritariamente no período noturno, entretanto atividade durante o período diurno também foi registrada em alguns meses. O tempo de permanência na fase larval foi de aproximadamente dois anos (22 meses), e a taxa de crescimento dos girinos foi constante durante o ano. Já os adultos apresentaram atividade restrita entre os meses outubro e janeiro, coincidindo com a estação quente e chuvosa da localidade, podendo ser observados em atividade durante todos os horários, com pico de atividade no início da noite (18:00 – 21:00). Essa é a faixa de horário em que os indivíduos foram observados em relações intraespecíficas e exercendo atividade alimentar. Nosso estudo reforça a sugestão de que *M. apuana* é uma espécie muda, uma vez que durante todo o período de estudo, não houve registro de nenhuma forma de comunicação acústica. A interação agressiva entre os machos incluiu sinalização visual (*display* dos sacos vocais) do indivíduo maior, além do combate físico, que culminou com a fuga do indivíduo menor. Por fim, nosso estudo reforça a hipótese de que a perda da vocalização no gênero *Megaelosia* está relacionada com o grande porte corpóreo das espécies correlacionado ao alto ruído presente em seus ambientes de reprodução. Neste estudo mostramos a importância do monitoramento populacional para obtenção de informações ecológicas básicas de uma espécie. Fornecemos informações sobre diversos aspectos ecológicos, como diurnidade, sazonalidade, padrão e taxa de crescimento de *M. apuana*. Descrevemos também o primeiro registro de sinalização visual e territorialidade para o gênero. Além de contribuir com o conhecimento dos itens alimentares, presentes na dieta dos indivíduos pós-metamórfico, dados que indicam o hábito generalista para a espécie. Este foi o estudo de autoecologia mais abrangente das espécies do gênero realizado até o momento.

Palavras-chave: anuros mudos; comunicação visual; ecologia alimentar; foto-identificação; ruído abiótico; sacos vocais; taxa de crescimento; desenvolvimento de girinos.

ABSTRACT

The genus *Megaelosia* includes torrent frog species endemic from the Atlantic Forest. Species of this group have low density populations, restricted distribution, cryptic behavior, are skittish and voiceless, which makes it difficult to obtain data of their natural history, reflecting in the low quantity of scientific studies. In order to improve this scenario, we monitored the population of *M. apuana* from Caparaó National Park (PNC), between October 2015 and January 2017, with the aim to obtain information about its natural history in different development stages. We used the photo-identification method to obtain capture and recapture data. This method uses color pattern of tadpole tails, since this pattern is stable until the metamorphosis phase. Tadpoles showed activity throughout the year, mainly at night, but daytime activity was also recorded in a few months. Development time of larval stages is approximately two years (22 months), and tadpoles growth rate was constant throughout the year. Adults showed restricted activity between October and January, coinciding with the local hot and rainy season, being observed in activity at all hours of the day, with peak activity in the early night (18:00 – 21:00). This was also the time range in which we observed individuals in intraspecific interactions and feeding activity. Our study reinforces the suggestion that *M. apuana* is a mute species, since during the entire study, any form of acoustic signaling was recorded. The aggressive interaction between males included visual signaling (vocal sacs display) of the larger individual, physical combat, and the retreat of the smaller individual. Lastly, our study strengthens the hypotheses that the loss of acoustic communication in the *Megaelosia* genus can be related with the large body size of the species, correlated with the high background noise present in their reproductive environments. In this study we showed the importance of population monitoring to obtain basic ecological information of a species. We provide information on several ecological aspects, such as daily activity, seasonality patterns and growth rate of *M. apuana*. We describe for the first time the use of visual signaling and territoriality for this genus. Besides contributing with the knowledge of the food items, present in the diet of post-metamorphic individuals, data that indicates the generalist habit for the species. This was the most comprehensive autoecology study until now, of the species of this genus.

Key-words: abiotic noise; food ecology; growth rate; mute frogs; photo-identification; tadpole development; visual communication; vocal sacs.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Introdução Geral

Figura 1. Indivíduo adulto de <i>Megaelosia apuana</i> observado no Parque Nacional do Caparaó.....	28
--	----

Capítulo 1

Figura 1. Girino de <i>Megaelosia apuana</i> capturado no Parque Nacional do Caparaó. Parâmetros biométricos utilizados para aferir a taxa de crescimento dos girinos: BL - comprimento corpo (<i>body length</i>); TL – comprimento total (<i>total length</i>); TAL - comprimento cauda (<i>tail length</i>); MTH - maior altura da cauda (<i>maximum tail height</i>). Note as manchas bem marcadas na cauda de coloração mais clara, esse padrão de manchas é indivíduo específico e foi utilizado para identificação dos girinos utilizando a técnica de foto-identificação.....	53
--	----

Figura 2. Girinos de <i>Megaelosia apuana</i> recapturados em quatro distintas saídas de campo. Note que o padrão de manchas disposto na cauda dos indivíduos é permanente (A: girino número 3 da Tabela S2), permanecendo estável até o momento da metamorfose (B: girino número 5 da Tabela S2), e assim permitindo a foto-identificação dos espécimes.....	54
--	----

Figura 3. Girinos de <i>Megaelosia apuana</i> capturados nos distintos períodos (diurno e noturno) por dia (n/dia). Abril e julho de 2016 representam as coletas referentes a estação seca e outubro e dezembro de 2016 e janeiro de 2017 representam a estação chuvosa. Valores apresentados como média \pm erro padrão (A). Girinos de <i>M. apuana</i> observados por dia (n/dia). Valores de <i>P</i> são referentes às análises de variância	
--	--

(ANOVA) realizadas para verificar a diferença de atividade dos girinos nos quatro distintos horários. Valores apresentados como média \pm desvio padrão (B).....55

Figura 4. Atividade anual dos adultos de *Megaelosia apuana*. Média dos indivíduos adultos observados por dia. A linha vermelha representa a precipitação média em milímetros registrados entre março de 2016 e janeiro de 2017 – dados registrados pela Empresa Simepar e fornecidos pelo setor administrativo do Parque Nacional do Caparaó (A). Horário de atividade dos adultos de *M. apuana*. Número total de indivíduos observados em cada faixa de horário no decorrer de todo período de estudo. Linha vermelha representa a curva de distribuição normal da atividade dos adultos. Bloco azul representa a faixa de horário de pôr do sol e os blocos amarelos representam a faixa de horário do nascer do sol durante o período de estudo no Parque Nacional do Caparaó. Os asteriscos representam os horários em que adultos foram observados em atividade alimentar (Alves & Toledo, 2017) e a cruz representa o horário em que observamos a sinalização visual e disputa territorial (Augusto-Alves *et al.*, 2018)56

Figura 5. Parâmetros biométricos significativamente distintos entre os girinos do Rio Caparaó (ambiente com muita correnteza) e do riacho tributário ao mesmo rio (ambiente com pouca correnteza). TL/MTH – comprimento total (*total length*)/maior altura da cauda (*maximum tail height*) (A). TAL/MTH – comprimento cauda (*tail length*)/maior altura da cauda (*maximum tail height*) (B). Diferença entre as correntezas dos dois ambientes analisados: Rio Caparaó e riacho tributário ao mesmo rio (C).....57

Figura 6. Curva para estimativa do tempo da fase larval de *Megaelosia apuana*. Regressão logarítmica entre a média do BL - comprimento do corpo (*body length*) dos girinos em cada categoria (ver Tabela S1) e meses de desenvolvimento. Barras verticais

representam a amplitude (mínimo e máximo) dos valores de comprimento do corpo em cada categoria.....58

Figura S1. Parque Nacional do Caparaó – PNC, localizado entre os estados de Minas Gerais e Espírito Santo, sudeste brasileiro. Triângulo azul – região do PNC conhecido como Vale-verde, local onde ocorreram as coletas de dados; -20.4194°S, -41.8464°W; 1.200 m acima do nível do mar.....64

Figura S2. Armadilha do tipo covo utilizada para captura dos girinos de *Megaelosia apuana*. Adaptado de Ribeiro & Zuanon, 2006.....65

Figura S3. Horário de atividade dos adultos de *Megaelosia apuana*. Média \pm erro padrão das observações dos indivíduos por dia, padronizando o esforço amostral em cada faixa de horário.....66

Capítulo 2

Figura 1. Sinalização visual de *Megaelosia apuana*, gravada no Parque Nacional do Caparaó, Município de Alto Caparaó, estado de Minas Gerais, Brasil; temperatura do ar: 21,8°C. Macho adulto com ambos os sacos vocais retraídos (A) e expandidos (B).....84

Figura 2. Comportamento agressivo de *Megaelosia apuana*. Detalhes das bocas entremeadas entre ambos os machos.....85

Figure 3. Regressão linear simples entre comprimento rostro-cloacal (CRC) médio e média das frequências dominantes dos cantos de anúncio das espécies analisadas de *Hylodes* e *Megaelosia*. Barras horizontais representam o erro padrão do CRC e as barras verticais representam o erro padrão da frequência dominante. A linha vermelha representa a média da frequência máxima do ruído de fundo gerado pela água corrente do riacho.....86

Figura S1. Macho adulto de *Hylodes phyllodes* com ambos os sacos vocais expandidos enquanto canta. Fotografado em Ubatuba, estado de São Paulo, Brasil.....90

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Taxa de crescimento dos girinos de *Megaelosia apuana*, entre os intervalos das coletas de campo. Valores apresentados em milímetros (mm), como média \pm desvio padrão (mínimo – máximo; número amostral)48

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros biométricos mensurados dos girinos de *Megaelosia apuana* nos dois ambientes de estudo. Valores de *P* representam o valor de significância da análise multivariada MANOVA, aplicando correção de Bonferroni. Um asterisco representa os parâmetros biométricos significativamente distintos entre os girinos do Rio Caparaó e riacho tributário ao mesmo rio. Todos os valores expressos em milímetros (mm).....49

Tabela S1. Datas dos trabalhos de campo no Parque Nacional do Caparaó. Os métodos empregados em cada data são representados por um asterisco. Duas visitas ao campo foram necessárias para conhecimento da área de estudo e principalmente adequação da melhor metodologia para coleta dos dados. Para calcular as taxas de crescimento e tempo de desenvolvimento foram utilizadas apenas as coletas de abril/16, julho/16, outubro/16 e janeiro/17, dessa forma respeitou-se o tempo de três meses entre as coletas. A busca ativa dos adultos consistiu na procura dos indivíduos no decorrer de toda a área estipulada para o estudo (trecho dos dois corpos d'água na região do Vale-verde; sempre duas pessoas realizando a busca ativa). Aproveitando a observação dos girinos, as buscas dos adultos foram padronizadas nos seguintes horários 06:00, 12:00, 18:00 e 00:00 (indicado na tabela como dois asteriscos), com duração de aproximadamente 2 horas por horário. Ademais, foram empregadas buscas aleatórias

em diferentes horários no decorrer das coletas, afim de obter informações de atividade em todas as faixas de horários do dia.....59

Tabela S2. Girinos recapturados caracterizados em sete distintas classes de acordo como o BL – comprimento do corpo (*Body Length*). Cinco dos 35 girinos recapturados (ver Tabela S2) foram excluídos da análise: três girinos foram excluídos, pois não foram recapturados em saídas de campo consecutivas; outros dois foram excluídos, pois os indivíduos já apresentavam redução do tamanho corporal, devido ao processo de metamorfose. Médias das sete categorias foram utilizadas para realização da análise de regressão logarítmica.....60

Tabela S3. Biometria dos girinos recapturados durante as distintas coletas de campo: TL – comprimento total (*total length*); BL - comprimento corpo (*body length*); TAL - comprimento cauda (*tail length*); MTH - maior altura da cauda (*maximum tail height*). Todos os valores biométricos expressos em milímetros (mm). *Score* gerado pelo *Software Wild-ID* ao analisar a semelhança das fotos dos indivíduos entre as coletas. Um asterisco representa a única recaptura não reconhecida pelo *Wild-ID*, portanto não há *score* para a amostra.....61

Tabela S4. Correlação de Pearson entre os parâmetros biométricos mensurados: TL – comprimento total (*total length*); BL – comprimento corpo (*body length*); TAL – comprimento cauda (*tail length*); MTH – maior altura da cauda (*maximum tail height*).....63

Capítulo 2

Tabela 1. Comprimento rostro-cloacal (CRC) e frequência dominante dos cantos de anúncio das espécies dos gêneros *Hylodes* e *Megaelosia*, e frequência máxima do ruído de fundo (averiguada pela função frequência 95% do *software Raven*). Valores estão

apresentados pela média \pm erro padrão (amplitude; tamanho amostral). Os números amostrais representam o número de indivíduos utilizados para averiguar o CRC e o número de cantos utilizados para averiguar a frequência dominante. Um asterisco indica a média dos valores calculados com bases em dados extraídos de outras referências....81

Tabela S1. Datas das coletas de campo realizadas no Parque Nacional do Caparaó.....89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abr	Abril
BL	Comprimento corpo (<i>body length</i>)
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas
cm	Centímetros
CMR	Captura-Marcação-Recaptura
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CRC	Comprimento Rostro-Cloacal
d	Dia
DD	<i>Data deficient</i>
EP	Erro padrão
ES	Espírito Santo
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FFT	<i>Fast Fourier Transform</i>
Fig	Figura
FNJV	Fonoteca Neotropical Jacques Viellard
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IUCN	<i>International Union for Conservation of Nature</i>
Jan	Janeiro
Jul	Julho
kHz	<i>Kilohertz</i>
L	<i>Large</i>
LaHNAB	Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros
LabEsC	Laboratório de Estudos Cromossômicos
m	Metros
MG	Minas Gerais

mm	Milímetros
MTH	Maior altura da cauda (<i>maximum tail height</i>)
n	Número amostral
NT	<i>Near threatened</i>
Out	Outubro
PNC	Parque Nacional do Caparaó
s	Segundos
S	<i>Small</i>
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SVL	<i>Snout-Vent Length</i>
Tab	Tabela
TAL	Comprimento cauda (<i>tail length</i>)
TL	Comprimento total (<i>total length</i>)
Unicamp	Universidade Estadual de Campinas
VU	<i>Vulnerable</i>
ZUEC	Museu de Zoologia Adão José Cardoso

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	23
Captura-marcação-recaptura para monitoramento populacional em anuros.....	23
Desenvolvimento e atividade em anuros.....	24
Comunicação dos anuros em ambientes com alto ruído abiótico e perda da vocalização de anúncio.....	25
<i>Megaelosia apuana</i> e os demais hilodídeos.....	26
CAPÍTULO 1.	30
Taxa de crescimento, tempo de desenvolvimento e perfil de atividade de <i>Megaelosia apuana</i> (Anura; Hylodidae), com especial enfoque à vida larval.....	31
Resumo.....	32
Introdução.....	33
Métodos.....	35
Resultados	40
Discussão.....	42
Agradecimentos.....	47
Tabela 1.....	48
Tabela 2.....	49
Figuras	50
Informações suplementares	59
CAPÍTULO 2.	67
Visual communication and aggressive behaviour in a giant mute torrent-frog, and insights on the loss of advertisement call in <i>Megaelosia</i> (Anura; Hylodidae)	68
Abstract	69
Introduction	70
Materials and Methods	72
Results	74

Discussion	76
Acknowledgements	80
Table 1.....	81
Figures	83
Appendix S1.....	87
Supplementary material.....	88
Capítulo 3.....	91
Food items in the rheophilic Torrent Frog <i>Megaelosia apuana</i> Pombal et al., 2003 (Anura, Hylodidae)	92
Acknowledgements	95
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	97
REFEÊNCIAS.....	99
ANEXOS.....	130
Anexo I - Licença de coleta: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio #52352-2).....	130
Anexo II – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas (CEUA/Unicamp #4396-1).	133
Anexo III – Resumo de trabalho apresentado no XI Congresso Latinoamericano de Herpetologia – PUCE, Equador.....	134
Anexo IV – Resumo de trabalho apresentado no XI Congresso Latinoamericano de Herpetologia – PUCE, Equador.....	135
Anexo V - <i>Herpetology Notes</i> . 2017. 10: 535-536.....	136
Anexo VI – <i>Amphibia-Reptilia</i> . 2018. 39(2): 260-264.....	138
Anexo VII - Declaração Bioética e Biossegurança.....	143
Anexo VIII - Declaração de Direitos Autorais.....	144

INTRODUÇÃO GERAL

Captura-marcação-recaptura para monitoramento populacional em anuros

O acompanhamento de uma população permite a obtenção de diversas informações que não seriam adquiridas em estudos pontuais, incluindo estimativas de parâmetros demográficos, padrões de uso espaço-temporal e taxa de crescimento individual (Heyer *et al.*, 1994). Informações essas, que possuem alta aplicabilidade em programas de manejo e conservação (Bailey & Nichols, 2010). Dentre as técnicas utilizadas, a captura-marcação-recaptura (CMR) é uma ferramenta amplamente utilizada para monitoramento populacional, em todas as classes de vertebrados (e.g. Grafe *et al.*, 2004; Jackson *et al.*, 2006; Bradshaw *et al.*, 2007; Llamas *et al.*, 2017).

Para anuros as técnicas de captura utilizadas nesses estudos devem levar em consideração o estágio de desenvolvimento e o hábito da espécie, sendo utilizadas captura manual (Peter, 2001; Grafe *et al.*, 2004; Pellet *et al.*, 2007; Bardier, 2017), armadilhas tipo *pitfall* (Lemckert & Shine, 1993; Brown, 1997) e armadilhas tipo covo (Measey, 2004) para adultos. Já para girinos podem ser utilizados o puçá e armadilhas tipo covo (Heyer *et al.*, 1994; Ribeiro & Rebelo, 2011).

Em meio a as técnicas conhecidas para reconhecimento desses animais, a utilização dos padrões das manchas naturais dos indivíduos é amplamente empregada para estudos com anuros adultos (Pellet *et al.*, 2007; Morrison *et al.*, 2016; Bardier, 2017), havendo um único estudo com girinos até o presente (Ribeiro & Rebelo, 2011). Além de eficaz para diversas espécies, o reconhecimento por marcas naturais caracteriza-se por ser uma técnica barata, de fácil aplicabilidade e não invasiva aos indivíduos (Bradfield, 2004; Phillott *et al.*, 2007; Morrison *et al.*, 2016). Entretanto, para correta implementação dessa técnica, deve-se verificar que haja individualidade no

padrão de coloração de cada indivíduo da população em estudo, e que este padrão seja estável durante todo o período de monitoramento (Philott *et al.*, 2007).

Desenvolvimento e atividade em anuros

O desenvolvimento dos anuros é influenciado por diversos fatores, incluindo o local de deposição dos ovos e, conseqüentemente, crescimento dos girinos (Wells, 2007). Por exemplo, girinos que se desenvolvem em corpos d'água permanentes, tendem a ter uma fase larval maior do que aqueles que se desenvolvem em corpos d'água temporários (Hoff *et al.*, 1999), pois nos ambientes permanentes há uma maior estabilidade ambiental e menor risco de dessecação (Fatorelli & Rocha, 2008). Além disso, o tempo de permanência na fase larval é influenciado por diversos fatores ambientais, como temperatura da água (Ultsch *et al.*, 1999; Maciel & Juncá, 2009; Goldstein *et al.*, 2017), taxa de dessecação (Brady & Griffiths, 2000; Gervasi & Foufopoulos, 2008), densidade intra e interespecífica (Bekhet *et al.*, 2014), presença de predadores (Vences *et al.*, 2002) e poluentes (Haywood *et al.*, 2004; Barry, 2011). Inclusive, algumas espécies são plásticas e podem acelerar sua saída do ambiente aquático, se as condições ambientais forem desfavoráveis (Alford, 1999; Brady & Griffiths, 2000; Gervasi & Foufopoulos, 2008). Ademais, os girinos apresentam mecanismos comportamentais para contornar fatores negativos, como temperatura desfavorável e presença de predadores, variando sua atividade espaço temporal a fim de diminuir o risco de mortalidade (Skelly & Werner, 1990; Tracy *et al.*, 1993; Relyea, 2001; van Buskirk & Arioli, 2002; Wu *et al.*, 2007).

Já na fase adulta, dentre as inúmeras influências presentes no ambiente, os anuros sofrem de forma mais intensa com o risco de dessecação gerado pela baixa umidade e temperaturas elevadas (Wells, 2007). Assim, selecionam microhábitats com

maior umidade e temperatura amena, vivendo principalmente próximos a corpos d'água (Navas, 1996; Seebacher & Alford, 2002; Wells, 2007). O perfil de atividade temporal dos adultos também é relacionado com as condições ambientais locais, sendo principalmente influenciado pela temperatura e pelo volume de chuvas, uma vez que além de evitar a dessecação da pele, uma elevada taxa de precipitação, também propicia maiores recursos para a reprodução desses organismos (ver Aichinger, 1987; Bertoluci & Rodrigues, 2002; Prado *et al.*, 2005; Ximenez & Tozetti, 2015; Ferreira-Silva *et al.*, 2016).

Comunicação dos anuros em ambientes com alto ruído abiótico e perda da vocalização de anúncio

Dentre o vasto e complexo repertório comportamental em anuros (Wells, 1977; 2007), a comunicação acústica é a forma mais difundida e estudada (Gerhardt & Huber, 2002), sendo utilizada principalmente para atração de parceiros reprodutivos, demarcação e defesa de território, e defesa contra predadores (Wilczynski & Chu, 2001; Wells, 2007; Köhler *et al.*, 2017). Neste sentido, a comunicação acústica apesar de energeticamente custosa ao indivíduo é vital para o processo reprodutivo na grande maioria dos anuros, sendo diretamente relaciona ao *fitness* individual.

Além da via acústica, vias alternativas de comunicação como visual, tátil e química compõem o repertório comportamental de muitas espécies do grupo (e.g., Hödl & Amézquita, 2001; Lee & Waldman, 2002; Barros & Feio, 2011; Lipinski *et al.*, 2012; Forti *et al.*, 2013). O sinal visual, por exemplo, pode representar um canal complementar de comunicação para espécies com sítios de reprodução em ambientes com alto ruído de fundo abiótico (Hödl & Amézquita, 2001). Tal interferência acústica

pode constituir uma fonte de pressão seletiva relacionada à perda da vocalização de anúncio em alguns táxons de anuros (Emerson & Inger, 1992).

Anuros que usam a via acústica em ambientes com alto ruído de fundo tendem a ter alta frequência dominante em seus cantos (Grafe *et al.*, 2012; Caldart *et al.*, 2016). Algumas espécies podem inclusive aumentar a frequência de seus cantos quando expostas à ambientes com maior intensidade de ruído que o normal, como em áreas urbanas (Parris *et al.*, 2009; Cunnington & Fahrig, 2010). Entretanto, se os anuros podem aumentar a frequência de suas vocalizações essa habilidade é limitada pelo seu porte corpóreo, uma vez que há uma correlação negativa entre a frequência de seus cantos e o tamanho do corpo do anuro (Bee *et al.*, 2000; Gingras *et al.*, 2013; Galvis *et al.*, 2016; Nunes-de-Almeida *et al.*, 2016). Esse fenômeno é conduzido pela relação positiva entre o tamanho do corpo do anuro e a massa de seu aparato vocal (Naris & Smith, 1986; McClelland *et al.*, 1996; Suthers *et al.*, 2006).

Se perder a capacidade de vocalizar pode ser considerado uma desvantagem, pois a espécie deverá utilizar formas alternativas de comunicação, por outro lado, isso pode implicar em benefícios. Por exemplo, sapos que não vocalizam são acusticamente camuflados, uma vez que muitos dos predadores de anuros podem ser orientados por suas vocalizações (ver Ryan *et al.*, 1981; Ryan *et al.*, 1982; Page & Ryan, 2008), sofrem de forma menos intensa com parasitismo (Caldart *et al.*, 2016), ou ainda podem ocupar ambientes com alto ruído abiótico de fundo, sem que haja mascaramento acústico (Vargas-Salinas & Amézquita, 2013).

***Megaelosia apuana* e os demais hilodídeos**

A família Hyloidae é composta por 47 espécies distribuídas em três distintos gêneros, *Crossodactylus* (14 espécies) *Hyloides* (26 espécies) e *Megaelosia* (7

espécies) (Frost, 2017). Todas as espécies se reproduzem em corpos de água corrente (Haddad *et al.*, 2013) e consequentemente ambientes com alto ruído abiótico de fundo. As espécies dos gêneros *Crossodactylus* e *Hylodes*, exceto *H. vanzolinii*, apresentam comunicação acústica. E diversos casos de comunicação visual ou bimodal (sinal acústico e visual concomitantemente) em um contexto reprodutivo ou agonístico são reportados para espécies de ambos os gêneros (Weygoldt & Carvalho e Silva, 1992; Haddad & Giaretta, 1999; Hödl & Amézquita, 2001; Narvaes & Rodrigues, 2005; Lingnau *et al.*, 2008; Caldart *et al.*, 2014; de Sá *et al.*, 2016; Malagoli *et al.*, 2017). Por outro lado, todas as espécies de *Megaelosia*, são consideradas mudas, pois não há registros de seus cantos de anúncio (Lutz, 1930; Weygoldt & Carvalho e Silva, 1992; Giaretta *et al.*, 1993; Pombal-Jr. *et al.*, 2003) e há uma espécie que não possui fendas e sacos vocais, *M. goeldii* (Giaretta *et al.*, 1993). Além disso, não há nenhum registro de formas alternativas de comunicação para o gênero *Megaelosia*.

Dentre as espécies do gênero, *M. apuana* (Fig. 1) é a espécie com distribuição mais ao norte da Mata Atlântica, possui distribuição restrita aos estados de Minas Gerais (Parque Nacional do Caparaó [PNC] e RPPN Mata do Sossego) e Espírito Santo (Parque Estadual da Pedra Azul) (Pombal-Jr. *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2011). Está associada a riachos com águas frias e limpas, em regiões montanhosas (1200 - 1800 m acima do nível do mar; Pombal-Jr., 2004; Augusto-Alves, dados não publicados). Os girinos são encontrados em remansos lânticos do corpo d'água principal (Pombal-Jr., 2004). E assim como os adultos os girinos são conhecidos pelo seu grande porte, podendo atingir mais de 12 cm de comprimento total (Pombal-Jr. *et al.*, 2003) quando atingem o estágio 39 de desenvolvimento (Gosner, 1960).



Figura 1. Indivíduo adulto de *Megaelosia apuana* observado no Parque Nacional do Caparaó.

De acordo com a IUCN (2015) não há dados suficientes para caracterizar seu estado de conservação atual (*Data deficient* – DD), entretanto, está incluída como espécie Vulnerável (VU) à extinção na lista de espécies da fauna ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo (Espírito Santo, 2005) e como espécie Quase Ameaçada (NT) pelo plano de ação nacional para conservação da herpetofauna ameaçada da Mata Atlântica da região Sudeste do Brasil (Brasil, 2015).

Espécies desse gênero são raramente estudadas, pois apresentam baixa densidade de indivíduos, distribuição restrita, comportamento críptico, são ariscas e mudas (Lutz, 1930; Giaretta *et al.*, 1993; Pombal-Jr. *et al.*, 2003). Consequentemente, existem poucos espécimes depositados em museus (Pombal-Jr. *et al.*, 2003), baixa produção de estudos gerais, principalmente voltados à história natural desses organismos, fazendo-se necessário um maior esforço em pesquisas para compreender a biologia das espécies abrangidas nesse gênero. Deste modo, acompanhamos uma população da espécie *M. apuana*, por um período superior a um ano, e pudemos contribuir com informações acerca dos aspectos ecológicos nos distintos estágios de

desenvolvimento. Descrevemos o primeiro registro de sinalização visual para o grupo, e testamos a hipótese que o alto ruído abiótico de fundo é relacionado com a perda da vocalização no gênero *Megaelosia*. Finalmente, trazemos informações acerca dos itens alimentares presentes na dieta de *M. apuana*.

**CAPÍTULO 1. TAXA DE CRESCIMENTO, TEMPO DE DESENVOLVIMENTO
E PERFIL DE ATIVIDADE DE *Megaelosia apuana* (ANURA; HYLODIDAE),
COM ESPECIAL ENFOQUE À VIDA LARVAL**

**Growth rate, development time and activity profile of *Megaelosia apuana* (Anura;
Hylodidae), with special focus in its larval stage**

**Taxa de crescimento, tempo de desenvolvimento e perfil de atividade de
Megaelosia apuana (Anura; Hylodidae), com especial enfoque à vida larval**

Guilherme Augusto-Alves^{1,2*}, Cecilia Bardier^{2,3} & Luís Felipe Toledo²

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, São Paulo, Brasil

²Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros (LaHNAB), Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo 13083-862, Brasil

³Laboratorio de Etología, Ecología & Evolución, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, IIBCE, Montevideo, Uruguai

*Autor para correspondência: GAA: alves.guilherme.augusto@gmail.com

Resumo

Devido ao ciclo de vida bifásico, as duas fases da vida dos anuros (larvas e indivíduos pós-metamórficos), desempenham papéis ecológicos e sofrem com influências bióticas e abióticas distintas. Por isso é interessante que estudos de dinâmica populacional compreendam ambas as fases de seu desenvolvimento. Neste sentido, nós acompanhamos a população de *Megaelosia apuana* do Parque Nacional do Caparaó ao longo de um ano, afim de obter informações acerca da dinâmica populacional e perfil de atividade durante as diferentes fases do desenvolvimento. Para coleta de dados de captura e recaptura, utilizamos o método de foto-identificação do padrão de manchas da cauda dos girinos, padrão estável até a fase de imago. Os girinos apresentaram atividade durante todo o ano, prioritariamente no período noturno. Entretanto, atividade durante o período diurno também foi registrada nos meses de verão. O tempo de permanência na fase larval foi de aproximadamente dois anos, e a taxa de crescimento dos girinos foi constante durante o ano, não sofrendo alterações durante as estações. Já os adultos apresentaram atividade restrita entre os meses outubro e janeiro, coincidindo com a estação quente e chuvosa da localidade, podendo ser observados em atividade durante todos os horários, com pico de atividade no início da noite. Nosso estudo é o primeiro sobre padrões de atividade e perfil de crescimento para o gênero endêmico da Mata Atlântica *Megaelosia*, contribuindo para o conhecimento de aspectos ecológicos de anfíbios reofílicos.

Palavras-chave: Amphibia; captura-marcação-recaptura; diurnidade; girinos; sazonalidade; pós-metamórficos; taxa de crescimento; tempo de desenvolvimento.

Introdução

Devido ao seu complexo ciclo de vida, e geralmente, ocupação de diferentes ambientes durante os seus distintos estágios de desenvolvimento, os anuros desenvolvem papéis ecológicos diferentes quando na fase larval ou adulta (Wells, 2007). Além disso, estão sob influências bióticas e abióticas distintas, como por exemplo, maior influência de predadores aquáticos e condições físico-químicas da água quando girinos e maior influência de predadores terrestres e umidade do ar em indivíduos pós-metamórficos (Istock, 1967; Alford, 1999; Wells, 2007). Deste modo, estudos sobre os aspectos populacionais devem compreender ambas as fases de vida dos anfíbios (Vonesh & De La Cruz, 2002).

O desenvolvimento dos anuros é influenciado por diversos fatores, incluindo o local de deposição dos ovos, e conseqüentemente, desenvolvimento dos girinos (Wells, 2007). Por exemplo, anuros que se desenvolvem em corpos d'água permanentes, tendem a ter uma fase de desenvolvimento larval maior do que aqueles que se desenvolvem em corpos d'água temporários (Hoff *et al.*, 1999), pois nos ambientes permanentes há uma maior estabilidade ambiental e menor risco de dessecação (Fatorelli & Rocha, 2008). Além disso, o tempo de permanência na fase larval é influenciado por diversos fatores ambientais, como temperatura da água (Ultsch *et al.*, 1999; Maciel & Juncá, 2009; Goldstein *et al.*, 2017), taxa de dessecação (Brady & Griffiths, 2000; Gervasi & Foufopoulos, 2008), densidade intra e interespecífica (Bekhet *et al.*, 2014), presença de predadores (Vences *et al.*, 2002) e poluentes (Haywood *et al.*, 2004; Barry, 2011). Inclusive algumas espécies são fisiologicamente plásticas e podem acelerar sua saída do ambiente aquático, quando encontram condições ambientais desfavoráveis (e.g., temperatura inadequada, presença de predadores e dessecação local) durante seu desenvolvimento (Alford, 1999; Brady & Griffiths, 2000;

Gervasi & Foufopoulos, 2008). Além da plasticidade fisiológica, os girinos podem apresentar diferenças morfológicas quando desenvolvidos em ambientes com distintas características bióticas e/ou abióticas (van Buskirk & Relyea, 1998; Relyea, 2002; Relyea, 2004; Miner *et al.*, 2005; van Buskirk, 2017). Ademais, os girinos apresentam mecanismos comportamentais para contornar fatores adversos, como temperatura desfavorável e presença de predadores, variando sua atividade espaço temporal a fim de diminuir o risco de mortalidade (Skelly & Werner, 1990; Tracy *et al.*, 1993; Relyea, 2001; van Buskirk & Arioli, 2002; Wu *et al.*, 2007).

Já na fase adulta, dentre as inúmeras influências presentes no meio, os anuros sofrem de forma mais intensa com o risco de dessecação gerado pela baixa umidade e temperaturas elevadas (Wells, 2007). Assim, a maioria dos anuros adultos selecionam microhábitats com maior umidade e temperatura adequada, vivendo principalmente próximos a corpos d'água (Navas, 1996; Seebacher & Alford, 2002; Wells, 2007). Ademais, algumas espécies podem regular a perda de água por meio de comportamentos, como mudança na postura corporal ou agregação de indivíduos (Wells, 2007). O perfil de atividade temporal dos adultos também é relacionado com as condições ambientais locais, sendo principalmente influenciado pela temperatura e precipitação local (Aichinger, 1987; Bertoluci & Rodrigues, 2002; Prado *et al.*, 2005; Ximenez & Tozetti, 2015; Ferreira-Silva *et al.*, 2016) uma vez que além de evitar a dessecação da pele, uma alta taxa de precipitação, também propicia maiores recursos para a reprodução desses organismos (Wells, 2007).

Desta forma para estudar o padrão de desenvolvimento larval, assim como o perfil de atividade de anuros que se desenvolvem em ambientes lóticos permanentes, a espécie muda endêmica da Mata Atlântica *Megaelosia apuana* se torna um bom modelo, dado seu hábitat de reprodução e desenvolvimento. Além de propiciar a análise

do perfil de atividade de um anuro mudo, uma vez que muitos dos trabalhos de atividade de anuros adultos levam em consideração a atividade de canto dos indivíduos. Esta espécie possui distribuição restrita aos estados de Espírito Santo e Minas Gerais, sudeste brasileiro (Pombal-Jr. *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2011) e está associada à riachos com águas frias e limpas de regiões montanhosas, entre 1200 e 1800 m acima do nível do mar (Pombal-Jr., 2004; Augusto-Alves, dados não publicados). Estudos sobre os aspectos ecológicos da espécie, assim como para todo o gênero *Megaelosia* são escassos, e os voltados para a fase larval ainda inexistentes. Deste modo, o propósito principal desse trabalho foi trazer informações acerca da dinâmica populacional e perfil de atividade de *M. apuana* durante as distintas fases do desenvolvimento, com especial enfoque à fase larval. Além disso, testamos e validamos a técnica de foto-identificação para girinos dessa espécie.

Métodos

Área de estudo e observação em campo

O estudo foi realizado em uma Unidade de Conservação de Proteção Integral, o Parque Nacional do Caparaó (PNC), localizado entre os estados de Minas Gerais e Espírito Santo, sudeste brasileiro (Fig. S1). A amostragem foi conduzida em dois trechos do Rio Caparaó, sendo um, o corpo d'água principal do rio (ambiente com muita correnteza), e outro um riacho tributário ao mesmo rio (ambiente com baixa correnteza), ambos na região do parque chamada Vale-verde (-20.4194°S, -41.8464°W; 1.200 m acima do nível do mar).

A coleta de dados ocorreu entre outubro de 2015 e janeiro de 2017, distribuído em sete visitas ao PNC, sendo as duas primeiras viagens de campo utilizadas para reconhecimento da área de estudo e adequação da metodologia (outubro de 2015 e

janeiro de 2016). As outras cinco expedições foram realizadas entre abril de 2016 e janeiro de 2017, com intervalo médio de três meses entre elas, mas com esforço amostral intensificado no verão, período de maior atividade dos indivíduos adultos. Totalizando 53 dias em campo e 440 horas/pessoa de busca ativa dos indivíduos adultos (Tab. S1). O estudo foi autorizado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas (CEUA/Unicamp #4396-1) e Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio #52352-2).

Captura, reconhecimento e biometria dos girinos

Para a captura dos girinos, armadilhas tipo covos com volume de 1,5 litros, iscadas com pedaços de salsichas foram utilizadas (Fig. S2). Essas armadilhas foram instaladas em todos os remansos, microambiente de desenvolvimento dos girinos encontrados ao longo do rio e do riacho, na região de estudo, sendo uma armadilha por remanso. Cada armadilha permaneceu instalada por três dias consecutivos e foram vistoriadas a cada 12 horas (com exceção dos trabalhos de campo de outubro e dezembro de 2016, quando devido ao grande volume de chuvas só obtivemos dados para dois dias consecutivos).

Após a captura dos girinos, a biometria foi aferida de acordo com os seguintes parâmetros: BL - comprimento corpo (*body length*); TL – comprimento total (*total length*); TAL - comprimento cauda (*tail length*); MTH - maior altura da cauda (*maximum tail height*) (Fig. 1). Posteriormente, esses dados em comparação com os obtidos em recapturas foram utilizados para determinação do perfil de crescimento dos girinos.

O reconhecimento dos girinos após recaptura ocorreu pelo padrão de coloração natural da cauda de cada indivíduo (Fig. 1), por meio de foto-identificação.

Para isso, fotografamos a cauda do girino, sempre do lado esquerdo no momento da captura. Realizamos o reconhecimento dos girinos de forma manual (*visual matching*) e também com o *software Wild-ID* (Dartmouth College, Hanover, New Hampshire, USA), que ranqueia as melhores imagens para confirmação visual. Para diminuir os possíveis erros de reconhecimento pelo *software* utilizado, gerados pelas porções invariantes das fotografias (fundo branco e corpo do girino), as fotos foram cortadas, centralizando a cauda do girino e diminuindo ao máximo o tamanho das bordas. A comparação entre as duas formas para reconhecimento das imagens, manual e automática, foi realizada afim de validar a eficiência no uso do *software Wild-ID* na identificação dos girinos de *M. apuana*.

Diuturnidade e Sazonalidade

Para girinos, utilizamos os dados de recaptura para avaliar o perfil de atividade, seguindo os tratamentos de horários, período noturno (das 18:00 às 06:00) e período diurno (das 06:00 às 18:00), em que as armadilhas eram instaladas ou revisadas. Com esse método podemos capturar girinos que estavam em atividade de forrageamento, uma vez que entravam nas armadilhas em busca de alimento. Adicionalmente, realizamos a contagem do número de girinos observados em cada remanso, em quatro distintos horários (06:00, 12:00, 18:00 e 00:00). Considerando os girinos observados, como indivíduos em atividade, uma vez que observamos que quando expostos exerciam atividade de forrageamento ou nado; e que grande parte dos períodos os mesmos ficavam escondidos sob as rochas – esses considerados inativos. Posteriormente esses dados foram confrontados com os obtidos nos diferentes períodos do ano, para assim verificar a ocorrência de sazonalidade para a espécie. Não foram consideradas as mudanças referentes ao horário de verão.

Os indivíduos adultos foram observados por meio de busca ativa. De acordo com Pombal-Jr. *et al.* (2003), a espécie possui atividade exclusivamente crepuscular/noturna. Entretanto, realizamos buscas durante ambos os períodos, para confirmar se não há atividade diurna (Tab. S1). Consideramos indivíduos ativos aqueles expostos sobre as rochas e margem dos corpos d'água. As buscas eram realizadas no mesmo tratamento de horários que realizávamos as observações dos girinos (06:00, 12:00, 18:00 e 00:00), com duração aproximada de duas horas. Adicionalmente, no decorrer dos dias de campo, realizávamos buscas em distintos horários, para assim, verificar o padrão de atividade em 24 horas dos adultos. Posteriormente, as informações entre as distintas coletas foram comparadas, proporcionando resultados sobre a atividade sazonal para a espécie.

Análises estatísticas

As taxas de crescimento dos girinos foram calculadas a partir dos dados biométricos obtidos com as recapturas. Realizamos uma Correlação de Pearson para verificar o grau de relação entre os dados biométricos (BL - comprimento corpo [*body length*]; TL – comprimento total [*total length*]; TAL - comprimento cauda [*tail length*]; MTH - maior altura da cauda [*maximum tail height*]). Realizamos uma análise multivariada MANOVA, comparando as taxas de crescimento dos diferentes parâmetros, biométricos nos três distintos intervalos entre as saídas de campo. Esses dados foram confrontados com os dados de temperatura da água, que foram obtidos com o auxílio de *Dataloggers HOBO*, que foram instalados em diferentes remansos no decorrer dos trabalhos de campo, e permaneceram captando dados, 24 horas por dia. Outra análise multivariada MANOVA (aplicando correção de Bonferroni à posteriori; análise realizada com os dados biométricos coletados, assim como as medidas

proporcionais entre esses dados: BL - comprimento corpo [*body length*]; TL – comprimento total [*total length*]; TAL - comprimento cauda [*tail length*]; MTH - maior altura da cauda [*maximum tail height*]; TL/BL; BL/TAL; TL/TAL; BL/MTH; TL/MTH; TAL/MTH), foi realizada para verificar as diferenças nos parâmetros morfológicos entre os girinos dos dois ambientes: rio vs. riacho. Para verificar a diferença entre a correnteza dos dois distintos ambientes realizamos um teste-t de amostras independentes (correnteza mensurada em cada remanso do rio e do riacho, medido pelo método de deslocamento de objeto por tempo estipulado; dentro da área compreendida pelo estudo).

Realizamos um teste-t de amostras independentes por grupos, utilizando os dados de captura, para verificar se houve diferença nos períodos de atividade entre as duas estações do ano: inverno seco e frio vs. verão quente e chuvoso. Realizamos análises de variância ANOVA para cada campo realizado afim de verificar diferenças entre os horários de captura dos girinos.

Categorizamos os girinos recapturados em sete classes de comprimento do corpo para estimar o tempo de permanência na fase larval (Tab. S2). Utilizamos 30 recapturas dos 35 girinos recapturados durante o estudo (Tab. S3). Três recapturas foram excluídas, pois não foram obtidas em saídas de campo consecutivas, e outras duas foram excluídas, pois os indivíduos já apresentavam redução do tamanho corporal, devido ao processo de metamorfose. Como intervalo entre cada categoria, padronizamos três meses, mesmo período entre a realização das capturas (coletas de campo). Posteriormente realizamos uma análise de regressão logarítmica utilizando as médias das categorias e o intervalo de tempo como variáveis. Retrocedemos a linha de tendência até 4 mm de comprimento do corpo. Esse valor foi estipulado como tamanho inicial de desenvolvimento, pois é o menor valor de comprimento do corpo encontrado

por Almeida-Gomes *et al.* (2013) para *Crossodactylus gaudichaudii* (outro membro da família Hyloidae). Valor estipulado como alternativa à falta de informações sobre o tamanho do corpo inicial de girinos de Hyloidae.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa *STATISTICA*

7.1 StatSoft.

Para os indivíduos adultos os dados de diurnidade e perfil de atividade sazonal tiveram caráter apenas descritivo.

Resultados

Validação do método de foto-identificação para girinos

O padrão de manchas de cada indivíduo se apresentou estável (Fig. 2A), mantendo-se inclusive até o período de metamorfose (Fig. 2B).

Foram realizadas 240 capturas, sendo 92 recapturas, incluindo recapturas em sessões distintas de um mesmo campo (amostragens secundárias). Dentre essas recapturas, o *software Wild-ID* foi capaz de reconhecer 89, proporcionando 97 % de eficiência (*score* médio 0,069). Entre os campos (amostragens primárias), foram realizadas 46 recapturas (35 indivíduos – dados biométricos, assim como os respectivos *scores* estão disponíveis na Tab. S3), sendo 45 dessas reconhecidas com o uso do Wild-ID, proporcionando 98 % de eficiência (*score* médio 0,028).

Diurnidade e sazonalidade

Os girinos apresentaram atividade no decorrer de todo o ano. A amostragem realizada com a técnica de captura mostrou que durante o período seco e frio (abril e julho), os girinos apresentaram atividade prioritariamente noturna ($t = -2,03$; $df = 11$; $P = 0,001$), já no período chuvoso e quente (outubro, dezembro e janeiro) não houve

diferença de atividade entre os períodos diurno e noturno ($t = 0,43$; $df = 11$; $P = 0,446$; Fig. 3A). Houve diferença de atividade dos girinos entre os horários durante o ano (Fig. 3B), sendo que, com exceção da observação de outubro, os girinos concentraram sua atividade nos horários vespertino (18:00) e noturno (00:00). Comparando as duas metodologias (captura e contagem/observação dos girinos) temos que nos meses em que os girinos são observados de dia (estação quente e chuvosa) com exceção de outubro essa atividade se concentra no final da tarde.

Os indivíduos adultos possuem atividade quase que exclusiva entre outubro e janeiro, coincidindo com o período quente e chuvoso (Fig. 4A). As observações mostraram que os adultos possuem pico de atividade entre 18:00 e 21:00 horas. Entretanto, podem ser encontrados também durante o dia, apresentando uma curva de atividade com distribuição normal (Fig. 4B; Fig. S3). Não observamos nenhum adulto ativo entre 09:00 e 12:00.

Desenvolvimento dos girinos

Os resultados biométricos são altamente correlacionados (Tab. S4). Os dados biométricos dos 35 girinos (Tab. S3), os quais foram recapturados em 46 oportunidades, foram utilizados para verificar o padrão de crescimento dos indivíduos. Verificou-se uma grande amplitude entre as taxas de crescimento entre os indivíduos, em todos os quatro parâmetros (Tab. 1). Não houve diferença nas taxas de crescimento entre os períodos do ano (MANOVA: $F_{(6,50)} = 1,857$; $P = 0,106$).

Dentre os dez parâmetros morfológicos comparados, dois (TL/MTH e TAL/MTH) apresentaram diferenças entre os girinos dos distintos ambientes (MANOVA: $F_{(8,231)} = 3,0$; $P = 0,003$; aplicando correção de Bonferroni para cada parâmetro [Fig. 5A e 5B; Tab. 2]), mostrando que os girinos que se desenvolvem no rio

possuem a nadadeira proporcionalmente mais alta que os girinos que se desenvolvem no riacho. As correntezas entre os dois ambientes estudados são diferentes ($t = -3,25$; $df = 47$; $P = 0,002$; Fig. 5C), possuindo o rio uma correnteza consideravelmente mais forte que o riacho.

Os girinos de *M. apuana* apresentaram crescimento logarítmico ($r^2 = 0,968$; $P < 0,001$; Fig. 6). Ao estendemos a curva de crescimento até 4 mm de BL (comprimento do corpo - *Body length*), ou seja, ao tamanho estipulado como inicial de desenvolvimento dos girinos, indicando que o tempo de permanência na fase larval seria de aproximadamente 22 meses, até o início da metamorfose.

Discussão

Assim como observado para girinos de outros hilodídeos – *Crossodactylus gaudichaudii*, *Hylodes nasus* e *H. uai* (Wogel *et al.*, 2004; Almeida-Gomes *et al.*, 2012; Fatorelli *et al.*, 2015) – os girinos de *M. apuana* foram observados no decorrer de todo o ano. Esses autores afirmam que a presença das formas larvais durante todo o ano nos riachos pode indicar atividade reprodutiva contínua dessas espécies. No entanto, atribuímos a presença contínua dos girinos de *M. apuana* nos riachos ao grande tempo de desenvolvimento larval, visto que os adultos apresentam atividade restrita aos meses chuvosos e, portanto, sua temporada reprodutiva deve ocorrer somente nesse período.

Observamos variação no perfil de atividade diária dos girinos de acordo com a época do ano. A variação no padrão de atividade temporal já foi observada para girinos em experimentação laboratorial. Girinos diminuem sua atividade de acordo com o incremento do risco de predação (van Buskirk & Arioli, 2002; van Buskirk *et al.*, 2002; Laurila *et al.*, 2004), ou ainda podem aumentar o tempo de atividade, assim como sua exposição a superfície quando a temperatura da água é mais elevada, devido ao

aumento da taxa metabólica (Moore *et al.*, 1998). Com base nos nossos resultados indicamos que a atividade dos girinos de *M. apuana* pode estar relacionada negativamente ao foto-período durante a época fria do ano, mas com incremento do tempo de atividade durante os meses quentes, como resposta a uma maior taxa metabólica.

Diversos trabalhos já expuseram a relação positiva entre taxa de crescimento de girinos e temperatura da água (e.g. Alford, 1999; Álvarez & Nicieza, 2002; Moody *et al.*, 2017). Entretanto, essa relação não foi observada em nosso estudo, mesmo com a variação de temperatura da água observada: média da temperatura da água em julho (mês mais frio) de 12,1 °C e em outubro (mês mais quente), média de 19,4 °C. Diferentemente da maioria desses estudos, nossas observações foram realizadas *in situ*, e não através de experimentação em ambientes controlados. Assim, não conseguimos inferir a causa da constante taxa de crescimento.

Além da expressão gênica, o fenótipo de um organismo pode ser influenciado por variáveis ambientais, capacidade conhecida como plasticidade fenotípica (Schlichtin, 1986; Miner *et al.*, 2005; Padilla & Savedo, 2013). A plasticidade fenotípica (fisiológica e morfológica) é reportada para girinos de diversas espécies quando presentes em ambientes de desenvolvimento com diferentes influências bióticas e abióticas (van Buskirk & Relyea, 1998; Relyea, 2002; Relyea, 2004; Miner *et al.*, 2005; van Buskirk, 2017). Deste modo, inferimos que a plasticidade fenotípica observada nos girinos de *M. apuana* (nadadeira proporcionalmente mais alta em indivíduos que se desenvolvem no rio do que nos indivíduos que se desenvolvem no riacho) seja uma resposta à diferença de correnteza entre os dois ambientes. Desta forma, os girinos que se desenvolvem no rio possuem mais força na cauda, facilitando sua locomoção em um ambiente com maior velocidade de água.

O tempo de desenvolvimento larval é uma informação sabida para poucas espécies de anuros no mundo. Dentro da família Hylodidae, essa informação não é conhecido para nenhuma espécie. Para o gênero *Megaelosia*, há apenas o relato da manutenção de um girino de *M. goeldii* em laboratório pelo período superior a um ano (A.T. Carvalho-e-Silva, com. pess.), corroborando com o amplo tempo de permanência na fase larval estimado por nossa análise. O grande tempo de desenvolvimento dos girinos pode estar relacionado com a baixa disponibilidade de matéria orgânica em riachos. Ademais, o tempo de desenvolvimento pode estar relacionado ao tamanho dos indivíduos na família Hylodidae, isto é, os girinos das espécies dos gêneros *Crossodactylus* e *Hylodes* teriam o tempo de desenvolvimento menor do que as espécies de *Megaelosia*, visto que tanto os girinos quanto os adultos são bem menores.

Adultos dos três gêneros da família Hylodidae, *Crossodactylus*, *Hylodes* e *Megaelosia*, são conhecidos por apresentarem atividade diurna (Giaretta *et al.*, 1993; Bastos & Pombal-Jr., 1995; Haddad & Pombal-Jr., 1995; Haddad *et al.*, 1996; Haddad & Giaretta, 1999; Haddad *et al.*, 2003; Nascimento *et al.*, 2005; Lingnau & Bastos, 2007; Haddad *et al.*, 2013). Alguns estudos mostraram que apesar da atividade prioritariamente diurna, algumas espécies podem também ser encontradas em atividade no início do período noturno, inclusive vocalizando (Haddad *et al.*, 2013; Lingnau *et al.*, 2013; de Sá *et al.*, 2015; Malagoli *et al.*, 2017). Pombal-Jr. *et al.*, (2003) sugerem que *M. apuana* seja a única espécie da família que apresenta atividade exclusiva noturna, embora Santos (2013) relata que indivíduos adultos foram avistados prioritariamente durante o dia. Já nossas observações mostraram indivíduos em atividade nos dois períodos, com pico de atividade durante o início da noite, coincidindo com os horários de observação de indivíduos em atividade alimentar (Capítulo 3; Alves & Toledo, 2017) e com a observação da disputa territorial e sinalização visual (Capítulo

2; Augusto-Alves *et al.*, 2018). Cada um desses três estudos foi realizado em uma localidade distinta (Município de Domingos Martins, ES – Pombal *et al.*, 2003; Município de Simonésia, MG – Santos, 2013; Município de Alto Caparaó, MG – presente estudo), mostrando que podem haver diferenças interpopulacionais no horário de atividade para a espécie. Por outro lado, os dois estudos prévios (Pombal-Jr. *et al.*, 2003; Santos, 2013) não conduziram um método padronizado para determinar a diuturnidade da espécie. Sendo assim, indicamos a necessidade de estudos comparativos para avaliar essa possível diferença entre populações.

Não há estudos precursores sobre a sazonalidade em espécies do gênero, entretanto, as observações e capturas dos indivíduos adultos coincidem com esse período do ano tanto para outras populações de *M. apuana*, quanto para as espécies congênicas (Giaretta *et al.*, 1993; Pombal *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2011; Santos, 2013). Não sabemos se essas observações realmente podem ser atribuídas à sazonalidade das espécies ou se apenas estão correlacionadas com o maior esforço amostral durante o período quente e úmido em estudos com anuros. Os padrões de atividade sazonal para as espécies da família Hylodidae ainda merecem mais estudos, uma vez que há espécies consideradas sazonais, como *Hylodes phyllodes*, *H. uai* e *M. apuana* (Hatano *et al.*, 2002; Canelas & Bertoluci 2007; presente estudo), e espécies que apresentam atividade durante todo o ano, como *Crossodactylus bokermanni*, *C. schmidtii*, *C. trachystomus* e *Hylodes heyeri* (Conte & Rossa-Feres, 2006; Afonso & Eterovick, 2007; Caldart *et al.*, 2016). Assim, uma amostra mais abrangente na família pode revelar distintos padrões de atividade.

O método de foto-identificação utilizando o padrão de manchas naturais dos indivíduos é frequentemente empregado no reconhecimento individual em anuros, quando na fase adulta, para execução de trabalhos visando captura-marcação-recaptura

(Pellet *et al.*, 2007; Morrison *et al.*, 2016; Bardier *et al.*, 2017). Entretanto, a foto-identificação é pouco utilizada para girinos, havendo até onde sabemos, um único estudo antecessor ao presente (Ribeiro & Rebelo, 2011). Assim como para *Alytes cisternasii* (Ribeiro & Rebelo, 2011), o padrão das manchas individuais foi estável para *M. apuana* durante todo o período larval, de modo que o método de foto-identificação foi eficiente, e pode ser utilizado com segurança para a espécie. Fato interessante também foi que um imago pode ser reconhecido. Assim seria possível ainda seguir os mesmos indivíduos na fase pós-metamórfica, agora reconhecendo o padrão de manchas do dorso de cada indivíduo, permitindo testar a sobrevivência dos juvenis após a metamorfose, e parâmetros demográficos da população adulta. Além disso, o uso da foto-identificação provavelmente pode ser utilizado para outras espécies da família Hylodidae, uma vez que seus girinos também apresentam manchas na porção caudal (Heyer *et al.*, 1990; Giaretta *et al.*, 1993; Giaretta & Aguiar-Jr., 1998; Faivovich, 1998; Nascimento *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2010a; 2010b; Nogueira-Costa *et al.*, 2012; Silva-Soares *et al.*, 2015).

A eficiência do *software Wild-ID* foi superior a 97% no reconhecimento das recapturas quando comparado ao método manual (*visual matching*). O alto índice de eficiência no reconhecimento dos girinos mostra que em futuros estudos com o grupo, o *software Wild-ID* pode ser utilizado com segurança, de forma a diminuir o volume inicial de fotos a serem reconhecidas, e otimizar o tempo de desenvolvimento do trabalho.

Neste estudo mostramos a importância do monitoramento populacional para obtenção de informações ecológicas básicas de uma espécie de anuro. Fornecemos informações de diversos aspectos ecológicos, como diurnidade, sazonalidade, padrão

e taxa de crescimento, nas diferentes fases do desenvolvimento de *M. apuana*, além de validar a técnica de foto-identificação de seus girinos.

Agradecimentos

Agradecemos ao Leandro Tacioli, Carolina Lambertini, Camila Zornosa Torres, Bruna Christina Dias, Luísa Ribeiro e Alexandre Bertolazzi pela ajuda com o trabalho de campo; Flávio César Thadeo de Lima e Jean Carlo Mari Fanton pela ajuda com a identificação dos organismos; Parque Nacional do Caparaó e Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), pela permissão de acesso ao parque, desenvolvimento e suporte logístico para realização da pesquisa (SISBio #52352-2); GAA e LFT agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP #2014/23388-7; #2016/25358-3) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq #300896/2016-6), pelo auxílio financeiro ao projeto; GAA agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

Tabela 1. Taxa de crescimento dos girinos de *Megaelosia apuana*, entre os intervalos das coletas de campo. Valores apresentados em milímetros (mm), como média \pm desvio padrão (mínimo – máximo; número amostral).

Parâmetros biométricos	Intervalo entre as amostragens		
	Abr – Jul/2016	Jul – Out/2016	Out/2016 – Jan/2017
Comprimento total	7,58 \pm 3,75 (2,7 – 12,5; n=5)	7,84 \pm 4,12 (1,0 – 16,4; n=17)	8,32 \pm 2,58 (3,7 – 12,1; n=8)
Comprimento corpo	3,52 \pm 3,61 (0 – 7,9; n=5)	3,11 \pm 1,94 (0 – 6,4; n=17)	4,54 \pm 1,21 (2,8 – 6,0; n=8)
Comprimento cauda	4,06 \pm 3,41 (0,9 – 9,5; n=5)	4,73 \pm 3,73 (0,3 – 11,3; n=17)	3,79 \pm 2,33 (0,9 – 7,5; n=8)
Maior altura cauda	0,32 \pm 0,44 (0 – 0,8; n=5)	1,97 \pm 1,09 (0,3 – 4,3; n=17)	1,96 \pm 1,61 (0 – 4,6; n=8)

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros biométricos mensurados dos girinos de *Megaelosia apuana* nos dois ambientes de estudo. Valores de *P* representam o valor de significância da análise multivariada MANOVA, aplicando correção de Bonferroni. Um asterisco representa os parâmetros biométricos significativamente distintos entre os girinos do Rio Caparaó e riacho tributário ao mesmo rio. Todos os valores expressos em milímetros (mm).

	Riacho	Rio	Valor de <i>P</i>
Comprimento total-TL	96,88 ± 17,89 (51,7 – 125,4)	96,46 ± 18,91 (50,4 – 132,7)	0,860
Comprimento corpo-BL	35,93 ± 7,34 (14,0 – 47,7)	36,89 ± 7,62 (17,6 – 48,2)	0,970
Comprimento cauda-TAL	60,95 ± 11,05 (37,5 – 79,0)	60,56 ± 11,59 (32,5 – 84,5)	0,795
Maior altura cauda-MTH	18,20 ± 3,97 (9,2 – 25,3)	18,37 ± 3,51 (9,2 – 25,6)	0,723
TL/BL	2,71 ± 0,20 (2,37 – 3,69)	2,70 ± 0,14 (2,42 – 3,37)	0,482
BL/TAL	0,58 ± 0,06 (0,37 – 0,72)	0,59 ± 0,04 (0,42 – 0,70)	0,737
TL/TAL	1,58 ± 0,06 (1,37 – 1,72)	1,59 ± 0,05 (1,42 – 1,70)	0,743
BL/MTH	1,98 ± 0,18 (1,49 – 2,42)	1,95 ± 0,17 (1,56 – 2,47)	0,131
TL/MTH*	5,37 ± 0,43 (4,32 – 6,39)	5,25 ± 0,37 (4,52 – 6,68)	0,021
TAL/MTH*	3,39 ± 0,33 (2,59 – 4,48)	3,30 ± 0,26 (2,81 – 4,24)	0,023

Figuras

Figura 1. Girino de *Megaelosia apuana* capturado no Parque Nacional do Caparaó. Parâmetros biométricos utilizados para aferir a taxa de crescimento dos girinos: BL - comprimento corpo (*body length*); TL – comprimento total (*total length*); TAL - comprimento cauda (*tail length*); MTH - maior altura da cauda (*maximum tail height*). Note as manchas bem marcadas na cauda de coloração mais clara, esse padrão de manchas é indivíduo específico e foi utilizado para identificação dos girinos utilizando a técnica de foto-identificação.

Figura 2. Girinos de *Megaelosia apuana* recapturados em quatro distintas saídas de campo. Note que o padrão de manchas disposto na cauda dos indivíduos é permanente (A: girino número 3 da Tabela S2), permanecendo estável até o momento da metamorfose (B: girino número 5 da Tabela S2), e assim permitindo a foto-identificação dos espécimes.

Figura 3. Girinos de *Megaelosia apuana* capturados nos distintos períodos (diurno e noturno) por dia (n/dia). Abril e julho de 2016 representam as coletas referentes a estação seca e outubro e dezembro de 2016 e janeiro de 2017 representam a estação chuvosa. Valores apresentados como média \pm erro padrão (A). Girinos de *M. apuana* observados por dia (n/dia). Valores de *P* são referentes às análises de variância (ANOVA) realizadas para verificar a diferença de atividade dos girinos nos quatro distintos horários. Valores apresentados como média \pm desvio padrão (B).

Figura 4. Atividade anual dos adultos de *Megaelosia apuana*. Média dos indivíduos adultos observados por dia. A linha vermelha representa a precipitação média em milímetros registrados entre março de 2016 e janeiro de 2017 – dados registrados pela Empresa Simepar e fornecidos pelo setor administrativo do Parque Nacional do Caparaó (A). Horário de atividade dos adultos de *M. apuana*. Número total de indivíduos observados em cada faixa de horário no decorrer de todo período de estudo. Linha vermelha representa a curva de distribuição normal da atividade dos adultos. Bloco azul representa a faixa de horário de pôr do sol e os blocos amarelos representam a faixa de horário do nascer do sol durante o período de estudo no Parque Nacional do Caparaó. Os asteriscos representam os horários em que adultos foram observados em atividade alimentar (capítulo 3; Alves & Toledo, 2017) e a cruz representa o horário em que observamos a sinalização visual e disputa territorial (capítulo 2; Augusto-Alves *et al.*, 2018) (B).

Figura 5. Parâmetros biométricos significativamente distintos entre os girinos do Rio Caparaó (ambiente com muita correnteza) e do riacho tributário ao mesmo rio (ambiente com pouca correnteza). TL/MTH – comprimento total (*total length*)/maior altura da cauda (*maximum tail height*) (A). TAL/MTH – comprimento cauda (*tail length*)/maior altura da cauda (*maximum tail height*) (B). Diferença entre a correnteza dos dois ambientes analisados: Rio Caparaó e riacho tributário ao mesmo rio (C).

Figura 6. Curva para estimativa do tempo da fase larval de *Megaelosia apuana*. Regressão logarítmica entre a média do BL - comprimento do corpo (*body length*) dos girinos em cada categoria (ver Tabela S1) e meses de desenvolvimento. Barras verticais

representam a amplitude (mínimo e máximo) dos valores de comprimento do corpo em cada categoria.

Figura 1

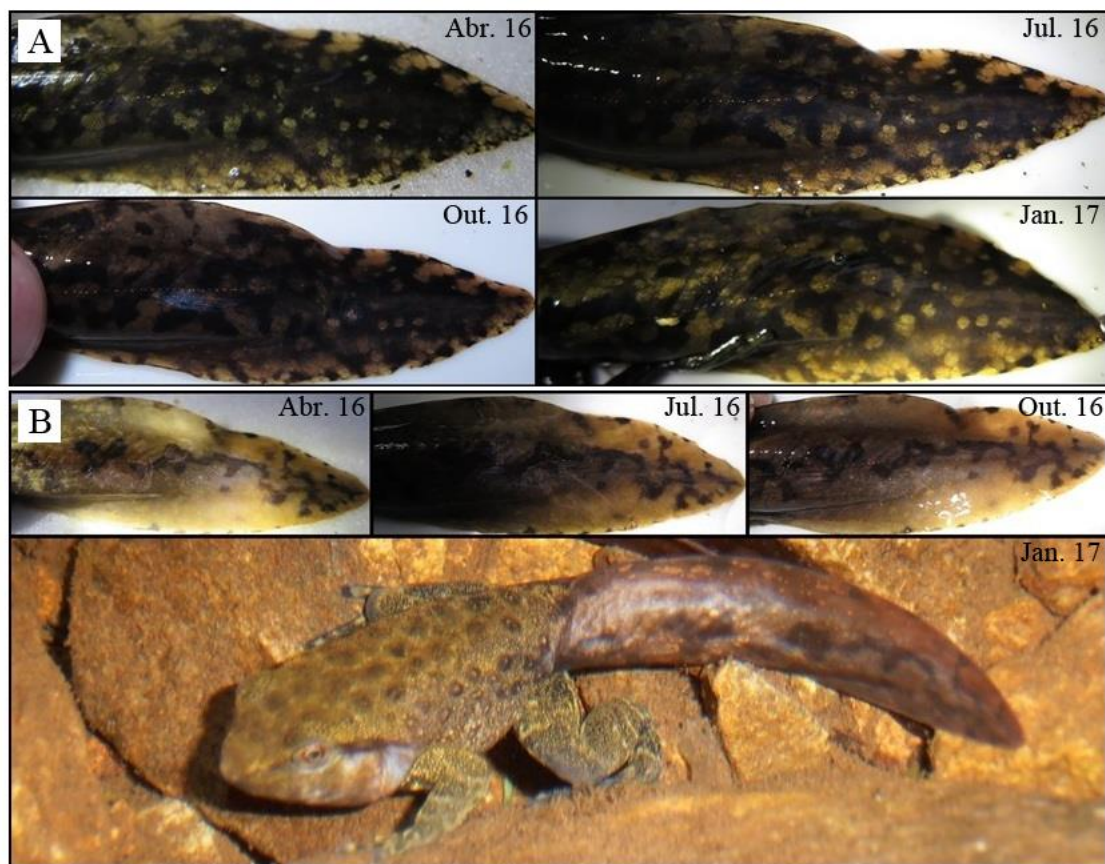
Figura 2

Figura 3

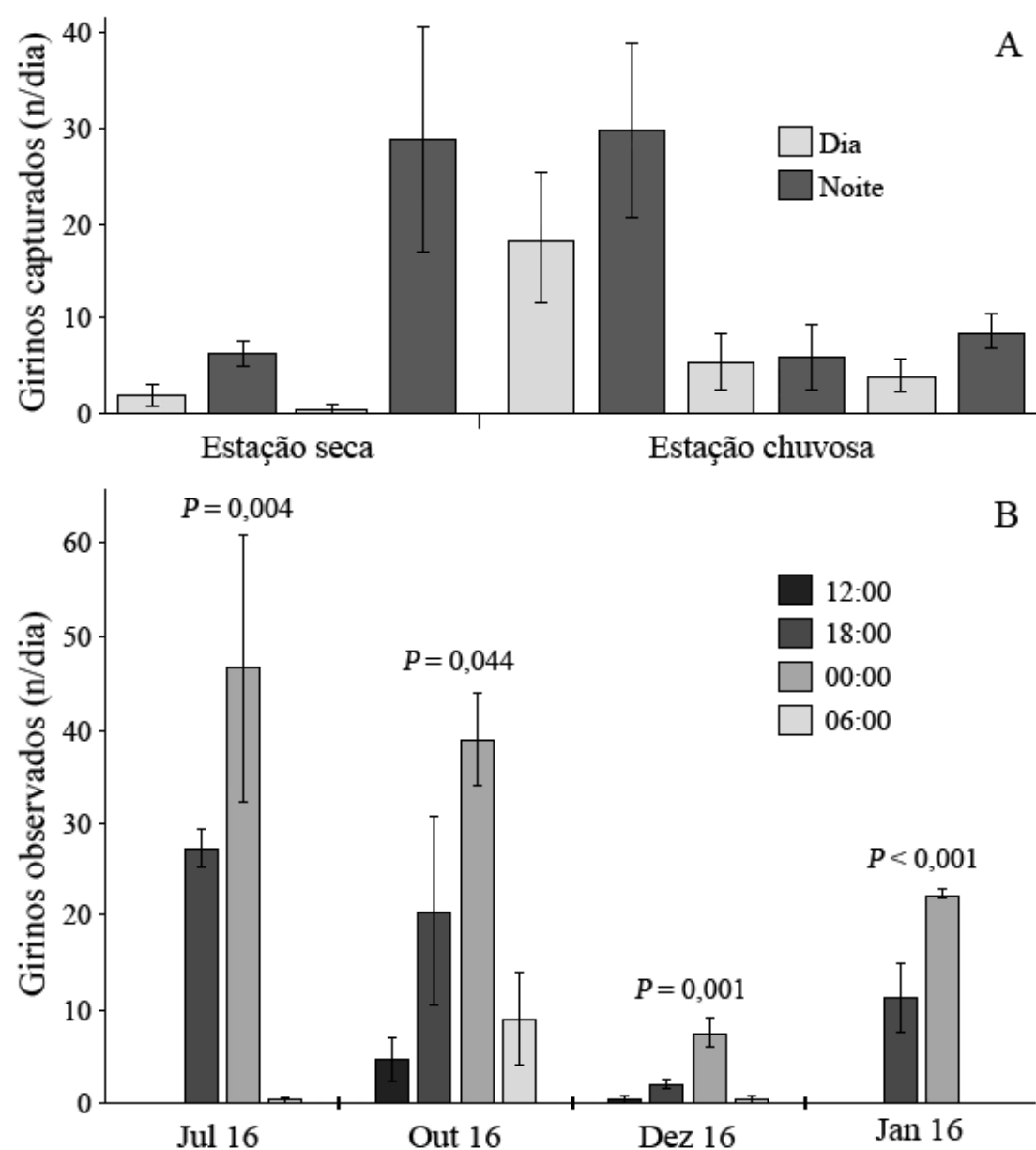


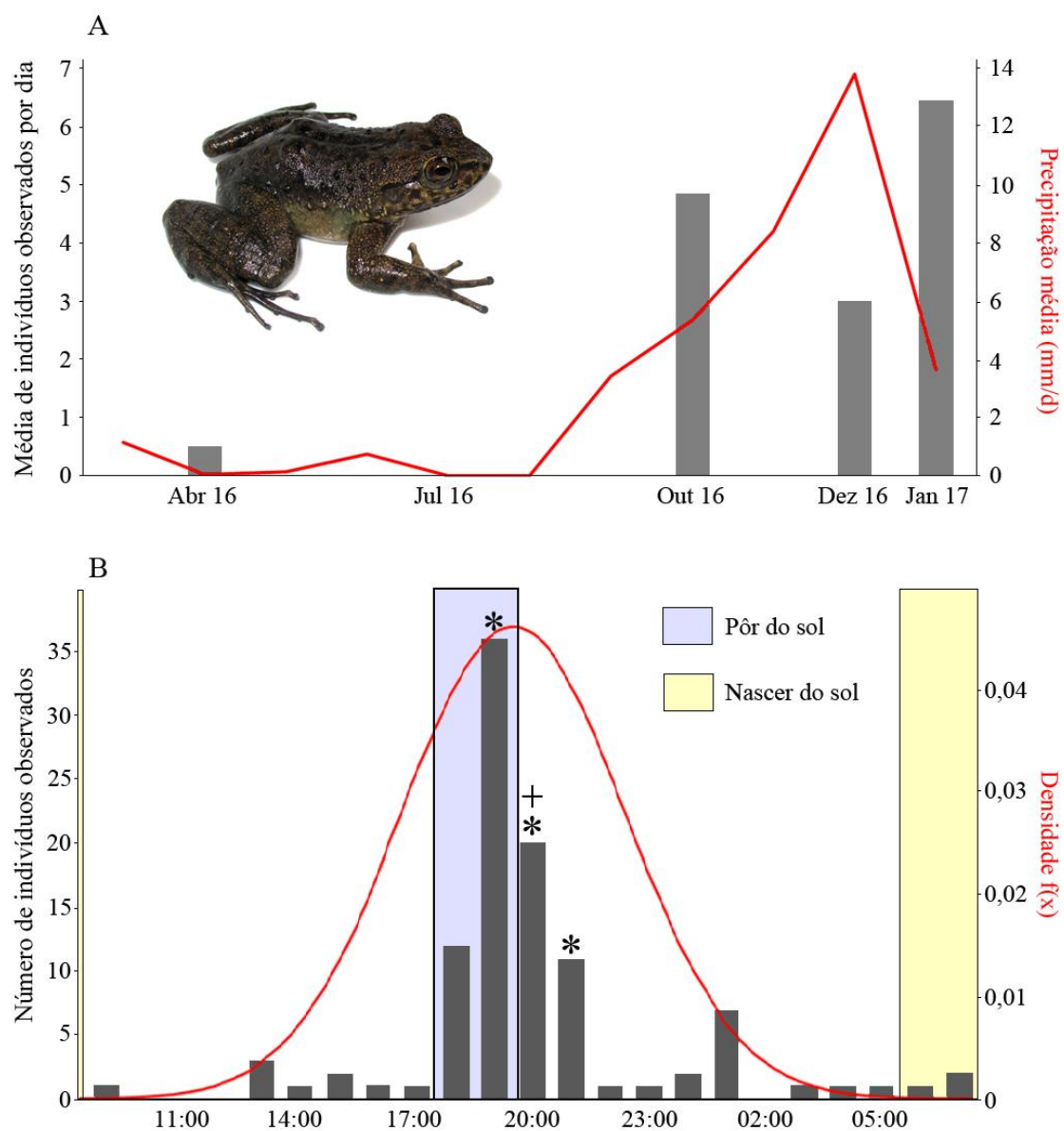
Figura 4

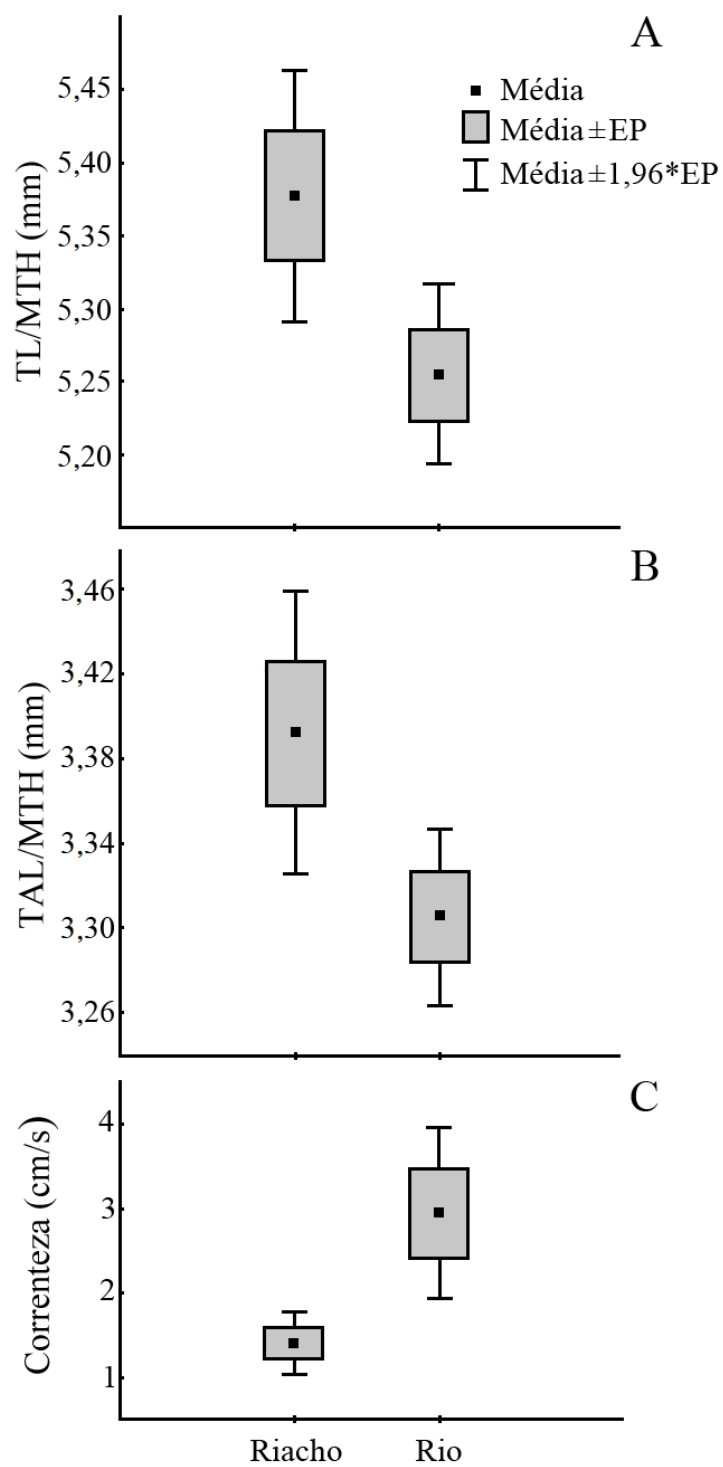
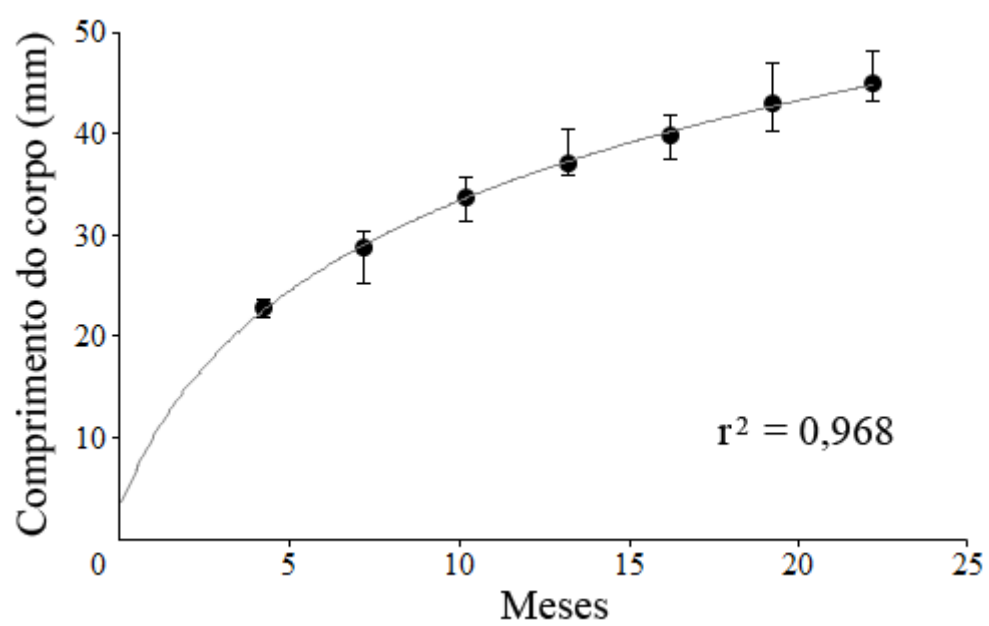
Figure 5

Figura 6



Informações suplementares

Tabela S1. Datas dos trabalhos de campo no Parque Nacional do Caparaó. Os métodos empregados em cada data são representados por um asterisco. Duas visitas ao campo foram necessárias para conhecimento da área de estudo e principalmente adequação da melhor metodologia para coleta dos dados. Para calcular as taxas de crescimento e tempo de desenvolvimento foram utilizadas apenas as coletas de abril/16, julho/16, outubro/16 e janeiro/17, dessa forma respeitou-se o tempo de três meses entre as coletas. A busca ativa dos adultos consistiu na procura dos indivíduos no decorrer de toda a área estipulada para o estudo (trecho dos dois corpos d'água na região do Vale-verde; sempre duas pessoas realizando a busca). Aproveitando a observação dos girinos, as buscas dos adultos foram padronizadas nos seguintes horários 06:00, 12:00, 18:00 e 00:00 (indicado na tabela como dois asteriscos), com duração de aproximadamente 2 horas por horário. Ademais, foram empregadas buscas aleatórias em diferentes horários, no decorrer das coletas, afim de obter informações de atividade em todas as faixas de horários do dia.

Trabalho de campo	Data de início	Data do fim	Captura dos girinos	Contagem dos girinos	Busca ativa dos adultos
Campo piloto I	21 de outubro de 2015	23 de outubro de 2015			
Campo piloto II	29 de janeiro de 2016	03 de fevereiro de 2016			*
I	20 de abril de 2016	28 de abril de 2016	*		*
II	27 de julho de 2016	27 de julho de 2016	*	*	**
III	18 de outubro de 2016	26 de outubro de 2016	*	*	**
IV	01 de dezembro de 2016	07 de dezembro de 2016	*	*	**
V	05 de janeiro de 2017	17 de janeiro de 2017	*	*	**

Tabela S2. Girinos recapturados caracterizados em sete distintas classes de acordo como o BL – comprimento do corpo (*Body Length*). Cinco dos 35 girinos recapturados (ver Tabela S2) foram excluídos da análise: três girinos foram excluídos, pois não foram recapturados em saídas de campo consecutivas; outros dois foram excluídos, pois os indivíduos já apresentavam redução do tamanho corporal, devido ao processo de metamorfose. Médias das sete categorias foram utilizadas para realização da análise de regressão logarítmica.

Girinos	Categorias						
	1	2	3	4	5	6	7
1			35,5	37,1	39,5		
2		25,3	33,2	37,0	37,5		
3					39,2	40,4	44,4
4				37,3	41,4		
5		28,9	35,8	36,1			
6					41,8	41,8	44,4
7				36,1	41,0	45,8	
8						43,4	43,4
9	21,9	28,3	33,9				
10		30,4	34,7				
11		29,6	31,4	37,4			
12		28,5	33,5	36,3			
13						41,4	44,6
14					38,0	42,1	
15				36,4	38,8		
16			32,0	36,0			
17		29,4	35,8				
18						44,7	45,8
19				36,1	38,1	42,5	
20						47,1	48,2
21						43,4	45,2
22		29,8	32,3				
23			34,2	36,8			
24						41,4	45,5
25	23,8	29,1					
26			33,1	37,7			
27				36,8	40,8		
28		30,3	33,4				
29				40,4	41,2		
30			34,7	40,5			
Média	22,85	28,96	33,82	37,20	39,94	43,09	45,10

Tabela S3. Biometria dos girinos recapturados durante as distintas coletas de campo: TL – comprimento total (*total length*); BL - comprimento corpo (*body length*); TAL - comprimento cauda (*tail length*); MTH - maior altura da cauda (*maximum tail height*). Todos os valores biométricos expressos em milímetros (mm). *Score* gerado pelo *Software Wild-ID* ao analisar a semelhança das fotos dos indivíduos entre as coletas. Um asterisco representa a única recaptura não reconhecida pelo *Wild-ID*, portanto não há *score* para a amostra.

Girinos	Abril/2016				Julho/2016					Outubro/2016					Janeiro/2017				
	TL	BL	TAL	MTH	TL	BL	TAL	MTH	Score	TL	BL	TAL	MTH	Score	TL	BL	TAL	MTH	Score
1	112,7	42,0	70,7	22,0	-	-	-	-	-	118,4	44,4	74,0	21,0	0,018	-	-	-	-	-
2	96,9	35,5	61,4	18,9	102,3	37,1	65,2	19,7	0,001	106,7	39,5	67,2	21,6	0,002	-	-	-	-	-
3	81,4	25,3	56,1	15,8	93,9	33,2	60,7	15,8	0,087	105,1	37,0	68,1	19,5	0,097	107,4	37,5	69,9	18,8	0,051
4	74,2	28,1	46,1	15,0	-	-	-	-	-	77,8	30,7	47,1	15,0	0,012	-	-	-	-	-
5	110,7	39,2	71,5	23,7	113,4	40,4	73,0	23,7	0,003	117,0	44,4	72,6	24,7	0,024	-	-	-	-	-
6	116,3	37,3	79,0	24,9	117,1	41,4	75,7	22,8	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	84,4	28,9	55,5	16,4	92,2	35,8	56,4	16,4	0,001	102,2	36,1	66,1	19,1	0,023	-	-	-	-	-
8	104,8	41,8	63,0	19,4	114,3	41,8	72,5	20,2	0,002	120,3	44,4	75,9	22,9	0,041	-	-	-	-	-
9	110,1	36,1	74,0	20,2	115,1	41,0	74,1	19,5	0,011	119,1	45,8	73,3	22,5	0,003	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	114,8	43,4	71,4	21,1	-	115,8	43,4	72,4	21,8	0,000	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	63,7	21,9	41,8	11,9	-	80,1	28,3	51,8	13,5	0,018	87,5	33,9	53,6	15,1	0,020
12	-	-	-	-	81,5	30,4	51,1	14,9	-	91,9	34,7	57,2	15,9	0,056	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	76,6	29,6	47,0	15,8	-	82,8	31,4	51,4	17,6	0,008	92,1	37,4	54,7	18,2	0,028
14	-	-	-	-	77,5	28,5	49,0	14,3	-	86,5	33,5	53,0	15,8	0,004	90,2	36,3	53,9	16,5	0,025
15	-	-	-	-	105,8	41,4	64,4	21,8	-	120,3	44,6	75,7	25,0	0,019	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	108,0	38,0	70,0	23,0	-	111,6	42,1	69,5	21,0	0,001	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	99,0	36,4	62,6	21,9	-	99,5	38,8	60,7	20,3	0,011	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	90,7	32,0	58,7	17,7	-	95,8	36	59,8	19,6	0,016	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	80,4	29,4	51,0	15,9	-	87,1	35,8	51,3	18,2	0,018	-	-	-	-	-

20	-	-	-	-	119,5	44,7	74,8	25,6	-	122,6	45,8	76,8	23,9	0,003	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	95,6	36,1	59,5	16,4	-	107,8	38,1	69,7	20,7	0,010	115,0	42,5	72,5	20,7	0,042
22	-	-	-	-	127,1	47,1	80,0	22,0	-	132,7	48,2	84,5	22,3	0,021	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	123,4	43,4	80,0	21,6	-	126,3	45,2	81,1	23,8	0,001	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	83,5	29,8	53,7	16,6	-	89,1	32,3	56,8	17,4	0,068	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	67,7	22,9	44,8	13,8	-	-	-	-	-	-	83,3	30,9	52,4	15,7	0,053
26	-	-	-	-	93,0	34,2	58,8	19,8	-	96,3	36,8	59,5	18,9	0,002	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	115,8	44,6	71,2	23,7	-	117,1	41,4	75,7	22,7	0,227	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	113,7	41,4	72,3	22,5	-	117,1	45,5	71,6	23,2	0,016	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	73,1	23,8	49,3	13,4	-	79,2	29,1	50,1	14,4	0,112	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	86,1	33,1	53,0	16,2	-	98,2	37,7	60,5	17,8	0,019
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	97,2	36,8	60,4	15,2	-	108,1	40,8	67,3	19,8	0,007
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	109,2	42,6	66,6	19,3	-	107,6	39,8	67,8	16,1	0,057
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	79,2	30,3	48,9	13,5	-	86,5	33,4	53,1	16,6	*
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	101,8	40,4	61,4	20,0	-	108,4	41,2	67,2	19,4	0,014
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	101,0	34,7	66,3	16,9	-	109,7	40,5	69,2	20,4	0,007

Tabela S4. Correlação de Pearson entre os parâmetros biométricos mensurados: TL – comprimento total (*total length*); BL – comprimento corpo (*body length*); TAL – comprimento cauda (*tail length*); MTH – maior altura da cauda (*maximum tail height*).

	TL	BL	TAL
BL	0,967		
TAL	0,986	0,912	
MTH	0,925	0,907	0,904

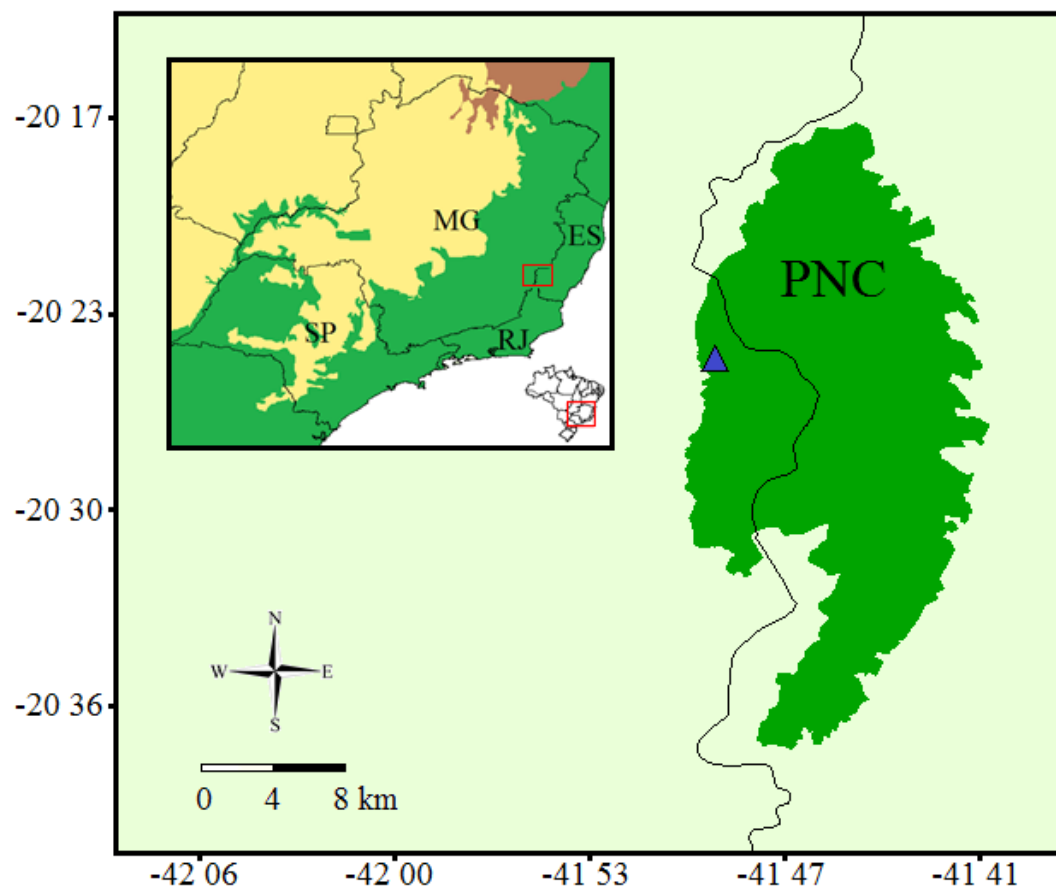


Figura S1. Parque Nacional do Caparaó – PNC, localizado entre os estados de Minas Gerais e Espírito Santo, sudeste brasileiro. Triângulo azul – região do PNC conhecido como Vale-verde, local onde ocorreram as coletas de dados; -20.4194°S , -41.8464°W ; 1.200 m acima do nível do mar.

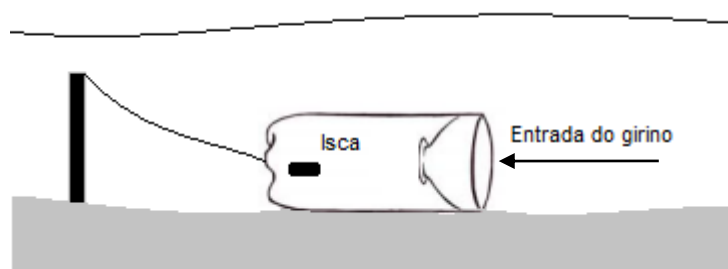


Figura S2. Armadilha do tipo covo utilizada para captura dos girinos de *Megaelosia apuana*. Adaptado de Ribeiro & Zuanon (2006).

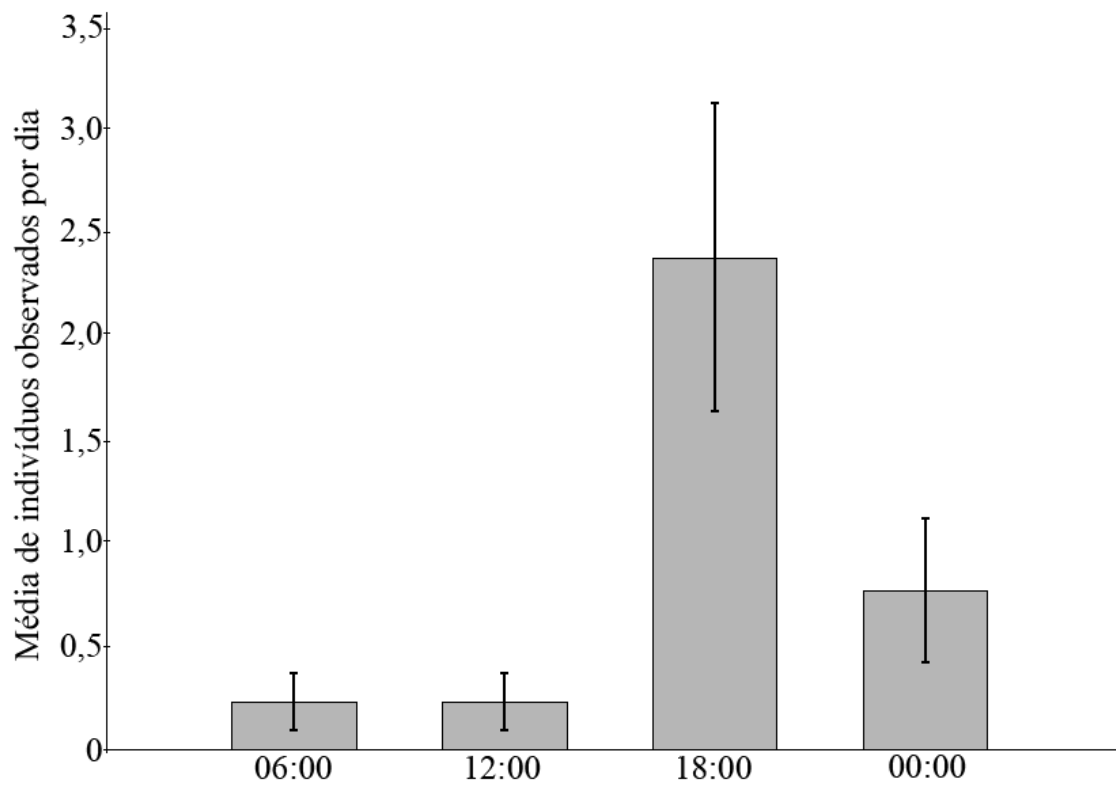


Figura S3. Horário de atividade dos adultos de *Megaelosia apuana*. Média \pm erro padrão das observações dos indivíduos por dia, padronizando o esforço amostral em cada faixa de horário.

**CAPÍTULO 2. COMUNICAÇÃO VISUAL E COMPORTAMENTO
AGRESSIVO DA RÃ DE CORREDEIRA, E PERDA DO CANTO DE ANÚNCIO
EM *Megaelosia* (ANURA; HYLODIDAE)**

**Visual communication and aggressive behaviour in a giant mute torrent-frog, and
insights on the loss of advertisement call in *Megaelosia* (Anura; Hylodidae)**

Trecho publicado: *Amphibia-Reptilia*. 2018. 39(2): 260-264. - *Visual communication and aggressive behaviour in a giant mute torrent-frog, Megaelosia apuana (Anura; Hylodidae)*

Visual communication and aggressive behaviour in a giant mute torrent-frog, and insights on the loss of advertisement call in *Megaelosia* (Anura; Hylodidae)

Guilherme Augusto-Alves^{1,2*}, Simone Aparecida Dena³, Luís Felipe Toledo^{2,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, São Paulo, Brazil

²Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros (LaHNAB), Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, 13083-862, Brazil

³Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard (FNJV), Museu de Zoologia Adão José Cardoso (ZUEC), Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, 13083-862, Brazil.

*Corresponding author email: alves.guilherme.augusto@gmail.com

Abstract

The advertisement call is the most common signal used by anurans for intraspecific communication. However, some species have lost the ability to emit these vocalizations and are denominated as mute. Alternatively, these species may communicate by visual, tactile and chemical signals. The lack of advertisement call could be explained by the influence of background noise in breeding microhabitats on anuran calls. The Hylodidae family includes three genera: *Crossodactylus*, *Hylodes* and *Megaelosia*. Most of the species inhabit noisy streams. *Crossodactylus* and *Hylodes* species, except for *H. vanzolinii*, present advertisement calls, while all *Megaelosia* species are mute with intraspecific communication tactics unknown. Thus, we observed a population of *M. apuana* and described visual signalling during aggressive interactions between two males. In addition, we inferred the influence of background noise in the loss of acoustic communication of frogs of the Hylodidae family by exploring relationships between size and mean dominant frequencies of the calls of *Hylodes* spp. and sizes of *Megaelosia* spp. The aggressive interaction between males included visual signalling of the larger individual, physical combat, and the retreat of the smaller individual. No sound was emitted during the whole aggressive interaction. This is the first report of visual signalling for the genus *Megaelosia*. We found a negative relationship between the advertisement call dominant frequencies and male sizes of *Hylodes* species. Additionally, most of these species call in frequencies above the mean background noise. Therefore, frogs with large body sizes, as *Megaelosia* species, would call with frequencies masked by the stream sound.

Key-words: background noise; *Hylodes*; mute frog communication; territoriality; visual signalling; vocal sacs.

Introduction

Among the vast and complex anuran behavioural repertoire, intraspecific communication is the most studied aspect, specifically during the breeding season (Wells, 1977; 2007). During this activity, acoustic communication can be used, for attraction of reproductive partners, territorial defences, and predator avoidance (Wilczynski and Chu, 2001; Wells, 2007; Köhler et al., 2017). Communication is therefore vital for survivorship and directly related to individual fitness. However, acoustic communication is not used by all anuran species. Anurans that do not produce advertisement calls are considered mute (Wells, 1977; Emerson and Inger, 1992). In spite of that, some of these mute species can emit other acoustic signals, such as distress and release calls (Jacobson and Vanderberg, 1991; Toledo and Haddad, 2009; Bell, 2010). For these species, it is likely that alternative forms of communication, such as visual, tactile and chemical, are used in reproductive and aggressive intraspecific interactions (e.g., Hödl and Amézquita, 2001; Lee and Waldman, 2002; Barros and Feio, 2011; Lipinski, Caldart and Iop, 2012; Forti, Mott and Strüssmann, 2013).

Visual signalling may represent a complementary communication channel for species that breed in sites with high background noise (Hödl and Amézquita, 2001), since this pressure could be related to the loss of the advertisement call (Emerson and Inger, 1992). Indeed, visual communication is observed in unrelated species that breed in environments with high background abiotic noise, such as *Atelopus limosus* (Bufonidae), *Crossodactylus gaudichaudii* (Hylodidae), *Ranoidea nannotis* (Pelodyadidae), *Staurois parvus* (Ranidae), and *Taudactylus eungellensis* (Myobatrachidae) (Hödl and Amézquita, 2001).

Anurans that use acoustic communication in noisy environments tend to have high-pitched dominant frequency calls (Grafe et al., 2012; Caldart et al., 2016).

Some species can also increase the dominant frequency of their calls when exposed to environments with higher noise intensity than normal, such as urban environments (Parris, Velik-Lord and North, 2009; Cunningham and Fahrig, 2010). However, even if anurans can modulate the frequency of their vocalizations, this ability is constrained by body size, with a negative correlation between anuran body size and call frequency (Bee, Perrill and Owen, 2000; Gingras et al., 2013; Nunes-de-Almeida et al., 2016; Galvis et al., 2016). This phenomenon is driven by the positive relationship between body size (length) and mass of the vocal apparatus (Naris and Smith, 1986; McClelland, Wilczynski and Ryan, 1996; Suthers et al., 2006).

Losing the ability to produce advertisement calls may be considered a disadvantage, on the other hand, being mute may provide some benefits. For example, frogs that do not vocalize are acoustically camouflaged, avoiding acoustically-oriented predators (e.g., Ryan, Tuttle and Taft, 1981; Ryan, Tuttle and Rand, 1982; Page and Ryan, 2008) or may grow larger in noisy environments (Vargas-Salinas and Amézquita, 2013). In this case, several benefits are implicit, such as the occupancy of an available niche, reduction of potential predators diversity, or higher chances of winning intraspecific physical combats (Shine, 1979; Vézina, 1982; Cohen et al., 1993).

In this context, the family Hylodidae, is an ideal model with which to examine the evolution of the loss of acoustic communication and the variation in the alternative or complementary visual communication. The family includes three genera and 47 species (Frost 2017) that inhabit noisy streams in Brazilian Atlantic Forest (Haddad et al., 2013). The species of the genera *Crossodactylus* and *Hylodes*, except for *H. vanzolinii*, present acoustic communication. Besides that, several cases of visual or multimodal (acoustic and visual communication concomitantly) communication, in reproductive or agonistic contexts, have also been reported for species of the genera

Hylodes (Haddad and Giaretta, 1999; Hödl and Amézquita, 2001; Narvaes and Rodrigues, 2005; Lingnau, Canedo and Pombal Jr., 2008; de Sá, Zina and Haddad, 2016; Malagoli et al., 2017) and *Crossodactylus* (Weygoldt and Carvalho e Silva, 1992; Caldart, Iop and Cechin, 2014).

Nevertheless, all species of *Megaelosia*, the genus most closely related to *Hylodes* (Pyrón, 2014), are considered mute, since there is no information on the emission of the advertisement call (Lutz, 1930; Weygoldt and Carvalho e Silva, 1992; Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993; Pombal Jr., Prado and Canedo, 2003) and there is a species, *M. goeldii*, that do not have vocal sacs nor vocal slits (Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993). To date, have been no records of alternative communication channel in *Megaelosia* species. Therefore, we investigated a species of the genus *Megaelosia*, *M. apuana*, to evaluate whether alternative (*i.e.* visual) communication is used by males to compensate for the lack of vocalization. Finally, we also tested the hypothesis that elevated background noise is related to the evolution of the muteness and body size in the genus *Megaelosia*.

Materials and Methods

We conducted the study at Caparaó National Park (PNC), a conservation unit located between the states of Minas Gerais and Espírito Santo, southeastern Brazil. Sampling occurred at Caparaó river, Vale-verde, municipality of Alto Caparaó, state of Minas Gerais (-20.4194°S, -41.8464°W; about 1,200 m a.s.l.). Fieldwork occurred between October 2015 and January 2017, and consisted of seven expeditions with a mean interval of two months between visits. Sampling occurred more frequently in the summer (period of the species highest activity). In total we conducted 56 days of sampling and 440 person-hours of active search (Table S1). According to Pombal,

Prado and Canedo (2003) *M. apuana* has strictly twilight/nocturnal activity. However, diurnal observations were also employed to evaluate whether the species exhibited daytime activity. The study was approved by Ethics Committee of the University of Campinas (CEUA/Unicamp #4396-1) and by Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio #52352-2).

We filmed focal individuals of *M. apuana* with a GoPro Hero 3+ Black Edition and a Sony DCR-SR47 coupled with red light illumination. Cameras were positioned in front of focal individuals and set to record for two uninterrupted hours. To verify the lack of vocalization in the species, an autonomous acoustic recorder Song Meter SM3 Acoustic (Wildlife Acoustics) was installed in the river. Audio recordings were performed in a frequency range of 200 Hz – 20 kHz with a sampling rate of 44.1 kHz and 16-bit resolution. Audio files were screened in Raven Pro 1.4 (Cornell Lab of Ornithology, Bioacoustics Research Program), employing the following configuration: 75% of brightness, 60% of contrast and 1024 of FFT (Fast Fourier Transform). In total, 40 hours of video and 54 hours of audio were recorded. Files were deposited in the video collection of the Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard, Zoology Museum “prof. Adão José Cardoso”, Unicamp, Campinas, São Paulo (Aggressive behaviour and visual signalling file - catalogue number: FNJV 1000402).

To test the relationship between background environmental noise and male size in the family Hylodidae, we performed a simple linear regression (snout-vent length [SVL] vs. advertisement call dominant frequency) using species of the genus *Hylodes*, the genus most closely related to *Megaelosia* (Pyrón, 2014). SVL data were obtained in the literature, and mean dominant frequency of the advertisement calls were extracted from the recordings deposited at Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard (Appendix S1), and complemented with data obtained from the available literature. We

measured the mean maximum frequency of the stream background noise from the same recordings of *Hylodes* spp. advertisement calls. Recordings were standardized in sample rate of 44.1 kHz, 16-bit resolution and normalized at -1dB. Audios were analysed in Raven Pro 1.4 (Cornell Lab of Ornithology, Bioacoustics Research Program), with the following configuration: 70% brightness, 50% contrast, and 1024 of FFT.

Finally, two *M. apuana* juvenile males (SVL 6.10 and 6.47 cm) were handled in the field to verify if the species can emit distress calls. The test consisted in holding the individuals by the hind limbs and shaking them, as describe by Toledo and Haddad (2009).

Results

We observed an aggressive interaction between two adult *M. apuana* males during a territorial dispute. These males were found at 20:15 h. on 14 Jan 2017 (-20.0700 S, -41.8447W; 18.6 °C air temperature; 70% UR) in a lentic pool (~1.5 m in diameter) in the Caparaó river margin. When our observation began, the males were already engaged in a physical combat, but immediately released one other after our initial approach. The larger individual (male L), moved to the stream margin, while the smaller male (approximately 80% of the male L' size; hereafter male S), hid under a rock in the pool margin. After 14 minutes, male S returned to the margin pool. Male L quickly approached the pool's centre, approximately 50 cm from its opponent, and began displaying visual signalling: male L expanded and retracted both vocal sacs four times, with a mean interval of 7.66 ± 2.56 seconds (5 – 10 s) between displays. After that, male L approached male S and intensified the signalling, expanding and retracting the vocal sacs in a higher rate for six times, with mean interval of 3.16 ± 0.41 seconds (3 – 4 s). The lateral vocal sacs have white dense pigmentation, contrasting with the

predominant dark greyish green colour of the frog's dorsum (Fig. 1). It was not possible to observe whether male S also emitted visual signals in response. After signalling, male L approached male S and the physical combat begun. The males bit each other's mouths (Fig. 2) and positioned their front limbs on the opponent's shoulders. They remained in this posture for 79 minutes. During this period male S remained motionless, while the male L alternated between being motionless and engaging in fast lateral shakes. When they released each other, male S swam to the pool margin, while male L swam to the centre of the pool, climbed on a rock, and remained there until male S retreated away.

No sound was emitted during the entire aggressive interaction, including the visual communication and the physical combat. We also did not observe any type of vocalization for *M. apuana* in the recordings obtained either from the video cameras or from the autonomous recorders installed in the river margins. Finally, no distress call was emitted in the defensive tests applied.

Megaelosia apuana adult males showed site fidelity, using the same territories of activity and rest. We observed 11 males using the same sites for consecutive days, with five of them observed for 11 consecutive days in the same sites during the longer field expedition.

We compiled acoustic and morphological information for 22 of the 25 *Hylodes* species that call (Table 1). We found a negative relationship between SVL and advertisement call dominant frequency in the genus *Hylodes* ($F_{(1,20)} = 11.96$; $r^2 = 0.37$; $P = 0.002$; Fig. 3). Most of the species, with the exception of *H. dactylocinus* and *H. perplicatus*, presented dominant frequencies above the mean background maximum frequency noise (3.20 ± 0.35 [1.76 - 4.41; $n = 9$]). In addition, we extended the linear regression line down to zero Hz, and the intersection between this frequency and frog length occurred at approximately 75 mm SVL (Fig. 3). All adult males of the genus

Hylodes are smaller than 45 mm and all adult males of the genus *Megaelosia* are larger than 75 mm (Table 1; Fig 3).

Discussion

The consecutive encounter of the same individual using the very same spot in the river for several days, and also returning of that place shortly after being disturbed, serves as evidence philopatry (site fidelity) in *M. apuana*. Such behaviour is widespread among anurans (e.g., Greer and Wells, 1980; Robertson, 1986; Roithmair, 1992; Bee and Gerhardt, 2002; Pröhl, 2005), including other species of the Hylodidae family, and is commonly related to territoriality (Haddad and Giaretta, 1999; Nascimento, Pombal Jr. and Haddad, 2001; Lingnau, Canedo and Pombal Jr., 2008; de Sá et al., 2015). Therefore, we interpret the use of visual signalling in males of *M. apuana* as a means to advertise and defend territories against invasive intraspecific males (see also Haddad and Giaretta, 1999; Nascimento, Pombal Jr. and Haddad 2001; Caldart, Iop and Cechin, 2014; de Sá, Zina and Haddad, 2016). These territories provide the resident male profitable feeding areas (Chapter 3; Alves and Toledo, 2017) and likely refugia and egg laying sites as well.

Visual signalling, as the observed exhibition of vocal sacs, may prevent physical combats, since such fights can lead to damage to both males (Martins et al., 1998; Georgiev et al., 2013; Hutter et al., 2013). In our observation, the large male made several abrupt lateral movements while fighting, which could injure its opponent. The larger male was the winner, similarly to other reported agonistic interactions (Given, 1988; Tsuji and Matsui, 2002).

Our study reinforces the suggestion that individuals of the genus *Megaelosia* are mute (Lutz, 1930; Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993; Giaretta and

Aguiar Jr., 1998). The only report of sound emission in this genus was based on three adult females of *M. boticariana* that were handled in the field (Giaretta and Aguiar Jr., 1998). Therefore, these calls are likely distress or release calls (Köhler et al., 2017), also observed in *Incilius periglenes*, *Leiopelma archeyi* and *L. pakeka*, other mute anurans (Jacobson and Vanderberg, 1991; Bell, 2010).

Acoustic communication at frequencies bands not audible for humans have been reported in two species, *Odorrana tormota* and *Huia cavitympanum* (Feng et al., 2006; Arch, Grafe and Narins, 2007; Narins et al., 2013), and have been suggested for a third, *Haddadus binotatus* (Toledo and Haddad, 2009). However, the presence of ultrasonic calls in *M. apuana* is unlikely. Among these three species, only *H. cavitympanum* emits a call with its entire frequency band in the ultrasonic range. In the remaining species, only a portion of the call frequency is ultrasonic, with the remainder falling in the audible spectrum (below 20 kHz). Both species that naturally use ultrasonic communication (*O. tormota* and *H. cavitympanum*) have specialized ears for receiving ultrasounds (Feng et al., 2006; Arch, Grafe and Narins, 2007). This morphological specialization is absent in *M. apuana*.

Many diurnal anurans or those that breed in environments with high background noise also emit visual signals. Thus, it has been commonly suggested that high background noise and luminosity are related to the evolution of visual communication (e.g., Pombal Jr., Sazima and Haddad, 1994; Haddad and Giaretta, 1999; Hödl and Amézquita, 2001; Narvaes and Rodrigues, 2005; Hirschmanni and Hödl, 2006; Preininger, Boeckle and Hödl, 2009). On the other hand, visual communication among nocturnal anurans is also widely reported. In these cases, the visual signalling is associated with the acoustic signal, comprising what is known as multimodal communication (Hartmann et al., 2005; Toledo et al., 2007; Gomez et al.,

2009). Thus, the unimodal visual communication is rare among nocturnal frogs. Our observation of this behaviour in *M. apuana* may be the first case reported among nocturnal voiceless species.

Anurans are the vertebrates with the highest visual capacity in low-light environments (Kelber, Yovanovich and Olsson, 2016), allowing for nocturnal visual communication. In spite of their excellent nocturnal sight, nocturnal visual signalling would be enhanced by the exhibition of contrasting colourations. Thus, the white dense colouration in the lateral vocal sacs *M. apuana*, contrasted with the dark greyish green dorsal pattern (Fig. 1), might have been select for the observed nocturnal visual communication. Vocal sacs are used in visual signalling for some *Hylodes* species as well (Haddad and Giaretta, 1999; Hartmann et al., 2005; de Sá, Zina and Haddad, 2016). In those species, vocal sacs are transparent and reflect sunlight during the day (Fig. S1). Therefore, different selective forces may be acting in the colour evolution of the vocal sacs of diurnal and nocturnal species.

Species that acoustically communicate in noisy environments exhibit behaviours that overcome the background sound. Comparative studies between calling amphibians (*Hylodes* spp. and *Nanorana* spp.) and birds (*Lochmias nematura*, *Phylloscopus* and *Sclateria naevia*), that dwell in torrent streams in Brazil and Nepal, revealed common characteristics related to the vocalizations of those groups (Dubois and Martens, 1984; Vielliard and Cardoso, 1996). The presence of calls composed by short notes with narrow frequency bands and rhythmically separated were considered convergent characteristics among those distinct phylogenetic lineages, avoiding masking by the stream background noise (Dubois and Martens, 1984; Vielliard and Cardoso, 1996).

The correlation between dominant frequency and SVL of the analysed species provides insights into the evolution of size and muteness in the genus *Megaelosia*. As size is a predictor of mean dominant frequency in the clade *Hylodes* + *Megaelosia*, we predict that if any of the *Megaelosia* species call, it would probably be very low pitched and acoustically masked by the stream noise. Therefore, we hypothesise that losing the ability to call and acquiring the abilities to produce visual signals were two necessary adaptations for the evolution of large body sizes among species of the genus *Megaelosia*. i.e., such characteristic (large body sizes), were only possible to evolve after a relaxation of the selective pressure imposed by stream flow noise, which limits frogs to small sizes, as they need to have high-pitched advertisement calls.

Several advantages may be related to large-body sizes. For example, a larger size may imply in higher reproductive effort, enabling the production of larger eggs or clutches (Kusano and Hayashi, 2002; Prado and Haddad, 2005; Wells, 2007; Hartmann, Hartmann and Haddad, 2010). It may also be related to an increased success in visual communication, as larger individuals may be more easily (or at greater distances) detected in the environment by conspecifics. Finally, it may also confer protection against predators, because larger animals are vulnerable to fewer potential predators (Vézina, 1982; Cohen et al., 1993). Therefore, we suggest that background noise may have acted as a phenotypic (body size and call frequency ranges) regulator of the species, at least in the genera *Crossodactylus* and *Hylodes* (all smaller than 4.5 cm).

Concluding, we provided further information corroborating that *M. apuana* is mute and described for the first-time visual signalling and aggressive behaviour for the genus *Megaelosia*. Furthermore, we believe that additional field observations are necessary to test if throat display in the genus *Megaelosia* is also used for female

attraction. Finally, we provide information that extends the known influence of the background streams noise to a phenotypic constrainer. Such hypothesis may be tested with other stream-dweller anurans all over the world.

Acknowledgements

We thank L. Tacioli, C. Lambertini, C. Torres, B. Dias, L. Ribeiro and A. Bertolazzi for helping with fieldwork; P. Andrade for the artistic drawing; A. Belasen for reviewing the English; L. Tacioli for helping with videos and figure edition. Parque Nacional do Caparaó and Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), for the permission of access of the park, development and logistic support for the research (SISBio #52352-2); GAA and LFT are grateful to the São Paulo Research Foundation (FAPESP #2014/23388-7) and to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq #300896/2016-6), for funding this project; GAA thanks the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), for a fellowship.

Table 1. Snout-vent length (SVL) and dominant frequency of the advertisement call of species of the genera *Hylodes* and *Megaelosia*, and background noise maximum frequency (acquired by the frequency 95% function in Raven). Values are presented as mean \pm standard error (range; sample size). Sample sizes are number of individuals for SVL and number of calls for dominant frequency. An asterisk indicates mean values based on range values extracted from other references.

Species	Snout-vent length (mm)	Reference	Dominant frequency (kHz)	Reference	Noise frequency 95 % (kHz)
<i>Hylodes amnicola</i>	26.7 \pm 0.31 (25.3-28.1; n=9)	Pombal Jr., Feio and Haddad, 2002	5.65 \pm 0.54 (5.10-6.20; n=2)	Pombal Jr., Feio and Haddad, 2002*	-
<i>Hylodes asper</i>	29.6 \pm 2.26 (24.2-38.4; n=7)	Hartmann, Hartmann and Haddad, 2010	5.68 \pm 0.25 (5.43-5.94; n=2)	Present study	-
<i>Hylodes babax</i>	31.5 \pm 0.40 (29.9 -33.2; n=7)	Pirani et al., 2010	4.63 \pm 0.26 (4.31-5.06; n=10)	Pirani et al., 2010	-
<i>Hylodes caete</i>	32.3 \pm 0.22 (31.3 - 34.0; n=16)	Malagoli et al., 2017	4.64 \pm 0.003 (3.93-5.06; n=36)	Malagoli et al., 2017	-
<i>Hylodes cardosoi</i>	40.4 \pm 0.35 (35.6-44.1; n=32)	Lingnau, Canedo and Pombal Jr., 2008	3.75 \pm 0.08 (3.62-3.89; n=3)	Present study	3.90
<i>Hylodes charadraetes</i>	33.0 \pm 1.80 (31.3-34.7; n=2)	Heyer and Cocroft, 1986*	4.52 \pm 0.82 (5.34-3.70; n=2)	Present study	4.13
<i>Hylodes dactylocinus</i>	25.2 \pm 0.09 (24.0-27.0; n=74)	Pavan, Narvaes and Rodrigues, 2001	2.97 \pm 0.35 (2.61-6.61; n=29)	Pavan, Narvaes and Rodrigues, 2001	-
<i>Hylodes fredei</i>	34.4 \pm 0.23 (32.8-36.7; n=19)	Canedo and Pombal Jr., 2007	4.05 \pm 0.45 (3.60-4.50; n=2)	Canedo and Pombal Jr., 2007*	-
<i>Hylodes heyeri</i>	36.0 \pm 0.22 (33.9-37.9; n=17)	Lingnau and Bastos, 2007	4.22 \pm 0.03 (3.90-4.61; n=85)	Lingnau and Bastos, 2007	-
<i>Hylodes japi</i>	24.7 \pm 0.22 (22.9-25.8; n=12)	de Sá et al., 2015	6.20 \pm 0.18 (5.80-6.60; n=90)	de Sá et al., 2015	-
<i>Hylodes lateristrigatus</i>	37.9 \pm 1.24 (36.7-39.2; n=2)	Heyer and Cocroft, 1986*	4.36 \pm 0.38 (3.53-6.03; n=6)	Present study	2.77
<i>Hylodes magalhaesi</i>	30.0	Haddad et al., 2013	5.12 \pm 0.13 (4.99-5.25; n=2)	Present study	3.66
<i>Hylodes meridionalis</i>	38.0	Haddad et al., 2013	3.39 \pm 0.45 (1.64-4.48; n=6)	Present study	1.76
<i>Hylodes nasus</i>	33.0 \pm 0.50 (29.0-36.0; n=13)	Machado et al., 2016	4.44 \pm 0.07 (4.31-4.65; n=5)	Present study	4.15
<i>Hylodes ornatus</i>	24.2 \pm 1.30 (22.9-25.5; n=5)	Silva and Benmaman, 2008*	5.33 \pm 0.03 (5.12-6.37; n=47)	Bilate, Nogueira-Costa and Weber, 2012	-
<i>Hylodes otavioi</i>	32.1 \pm 0.59 (30.9-33.3; n=4)	Sazima and Bokermann, 1982	4.31 \pm 0 (4.31-4.31; n=2)	Present study	1.98
<i>Hylodes perere</i>	25.3 \pm 0.15 (23.4-26.9; n=38)	Silva and Benmaman, 2008	5.49 \pm 0.69 (4.80-6.19; n=2)	Silva and Benmaman, 2008*	-

<i>Hylodes perplicatus</i>	38.6 ± 0.59 (37.0-39.8; n=4)	Haddad, Garcia and Pombal Jr., 2003	3.02 ± 0.10 (2.91-3.13; n=5)	Monteiro, Comitti and Lingnau, 2014	-
<i>Hylodes phyllodes</i>	27.2 ± 0.25 (25.6-29.8; n=19)	Hartmann, Hartmann and Haddad, 2010	4.48 ± 0.25 (3.01-5.08; n=7)	Present study	4.41
<i>Hylodes pipilans</i>	24.1 ± 0.27 (23.0-25.1; n=9)	Canedo and Pombal Jr., 2007	5.00 ± 0.40 (4.60-5.40; n=2)	Canedo and Pombal Jr, 2007*	-
<i>Hylodes sazimai</i>	27.7 ± 0.40 (27.1-28.5; n=3)	Haddad and Pombal Jr., 1995	4.54 ± 0.32 (4.22-5.17; n=3)	Present study	2.06
<i>Hylodes uai</i>	32.7 ± 0.30 (31.2-33.6; n=8)	Nascimento, Pombal Jr. and Haddad, 2001	4.35 ± 0.75 (3.60-5.10; n=2)	Nascimento, Pombal Jr. and Haddad, 2001*	-
<i>Hylodes vanzolinii</i>	29.0 (n=1)	Heyer, 1982	mute	Heyer, 1982	-
<i>Megaelosia apuana</i>	82.2 ± 5.09 (78.0-97.2; n=4)	Santos et al., 2011	mute	Present study	-
<i>Megaelosia bocainensis</i>	101.0	Haddad et al., 2013	mute	Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993	-
<i>Megaelosia goeldii</i>	88.6	Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993	mute	Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993	-
<i>Megaelosia lutzae</i>	90.4	Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993	mute	Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993	-
<i>Megaelosia massarti</i>	107.0	Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993	mute	Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993	-

Figures

Figure 1. Visual signalling of *Megaelosia apuana*, recorded at Parque Nacional of Caparaó, municipality of Alto Caparaó, state of Minas Gerais, Brazil; air temperature: 21.8 °C. Adult male with both vocal sacs retracted (A) and expanded (B).

Figure 2. Aggressive behaviour of *Megaelosia apuana*. Details of the mouths of both males interweaved.

Figure 3. Simple linear regression between mean snout-vent length (SVL) and mean of dominant frequency of *Hylodes* and *Megaelosia* analysed species. Horizontal bars represent the SVL standard error and the vertical lines represent the dominant frequency standard error. The red line represents the mean of maximum frequency of the background noise generated by the running water of the stream.

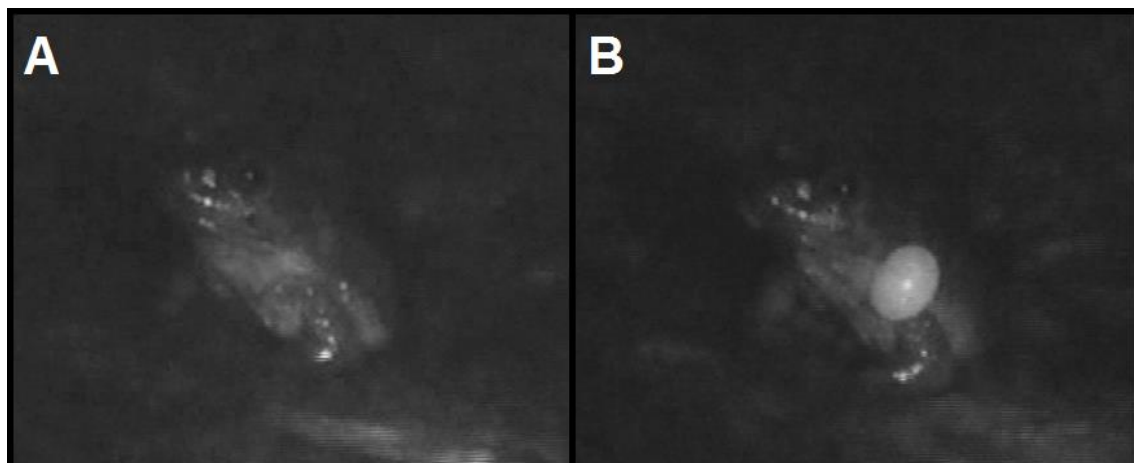
Figure 1

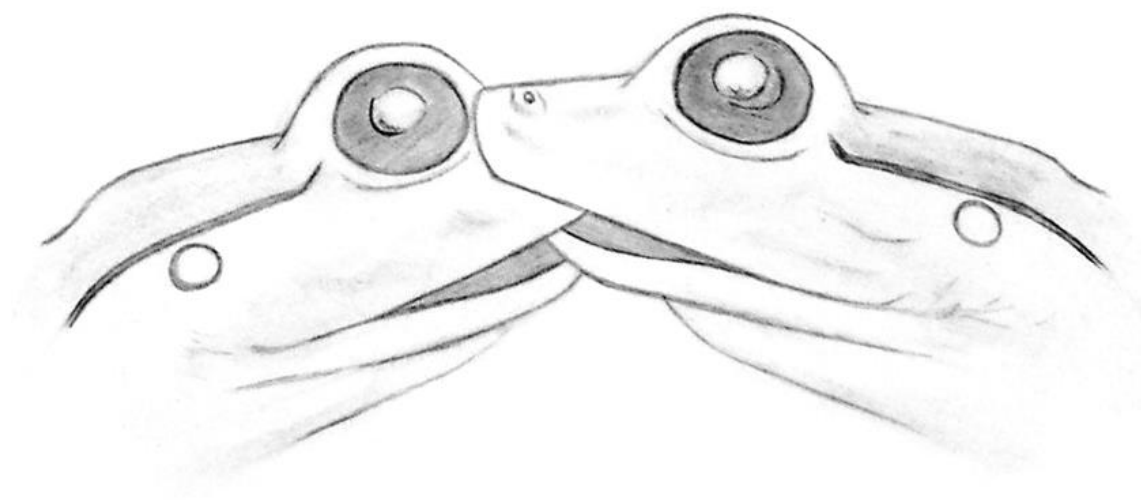
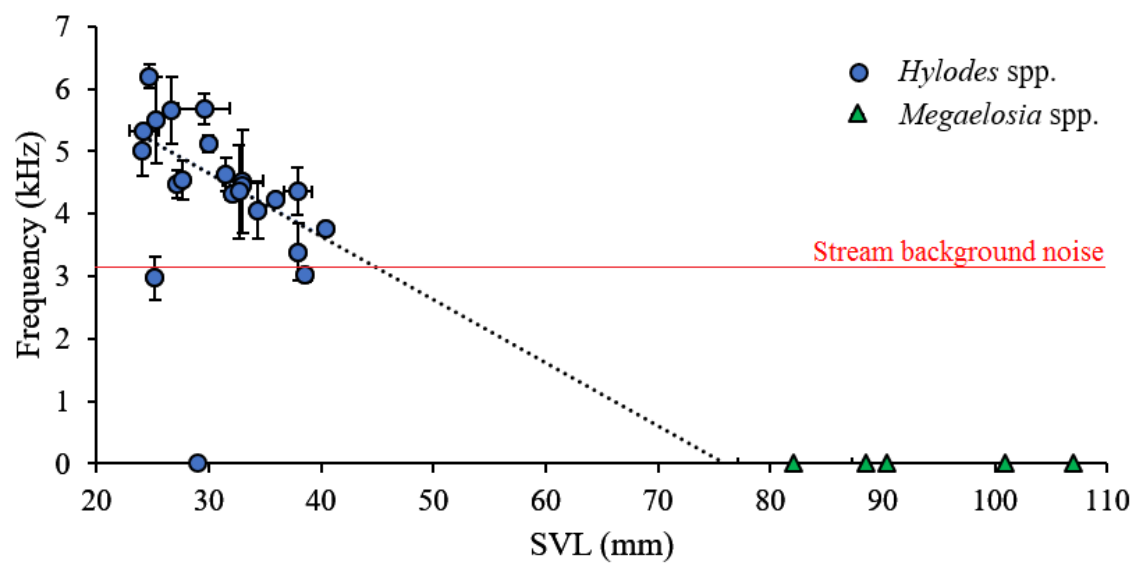
Figure 2

Figure 3

Appendix S1. Catalogue number of analysed files: *Hylodes asper*: FNJV 0031847, FNJV 0032109 and FNJV 0032110; *Hylodes cardosoi*: FNJV 0031669, FNJV 0031670 and FNJV 0031673; *Hylodes charadranaetes*: FNJV 0011876 and FNJV 0011879; *Hylodes japi*: FNJV 0033084; *Hylodes lateristrigatus*: FNJV 0008622, FNJV 0014283, FNJV 0031791-92, FNJV 0031991 and FNJV 0032144; *Hylodes magalhaesi*: FNJV 0010436 and FNJV 0031889; *Hylodes meridionalis*: FNJV 0011882, FNJV 0011883, FNJV 0011884, FNJV 0012937, FNJV 0033052 and FNJV 0033057; *Hylodes nasus*: FNJV 0011878, FNJV 0011880-81, FNJV 0031761 and FNJV 0031850; *Hylodes otavioi*: FNJV 0014281-82; *Hylodes phyllodes*: FNJV 0031700-01, FNJV 0031735-37, FNJV 0031741, FNJV 0031813 and FNJV 0032262; *Hylodes sazimai*: FNJV 0011873-75.

Supplementary material

Amphibia-Reptilia

Visual communication and aggressive behaviour in a giant mute torrent-frog, and insights on the loss of advertisement call in *Megaelosia* (Anura; Hylodidae)

Guilherme A. Alves^{1,2}, Simone A. Dena³, Luís F. Toledo^{2,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, São Paulo, Brazil

²Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros (LaHNAB), Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo 13083-862, Brazil

³Fonoteca Neotropical Jacques Vieliard (FNJV), Museu de Zoologia Adão José Cardoso (ZUEC), Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, 13083-862, Brazil.

Table S1. Dates of the fieldworks at Caparaó National Park.

Fieldwork	Start date	End date
Pilot fieldwork	October, 21 th , 2015	October, 23 th , 2015
I	January, 29 th , 2016	February, 03 th , 2016
II	April, 20 th , 2016	April, 28 th , 2016
III	July, 27 th , 2016	August, 04 th , 2016
IV	October, 18 th , 2016	October, 26 th , 2016
V	December, 01 th , 2016	December, 07 th , 2016
VI	January, 05 th , 2017	January, 17 th , 2017



Figure S1. Adult male of *Hylodes phyllodes* with both vocal sacs expanded while calling. Photographed at Ubatuba, state of São Paulo, Brazil.

CAPÍTULO 3. ITENS ALIMENTARES DA RÃ DE CORREDEIRA *Megaelosia apuana* Pombal *et al.*, 2003 (ANURA; HYLODIDAE)

**Food items in the rheophilic Torrent Frog *Megaelosia apuana* Pombal *et al.*, 2003
(Anura; Hylodidae)**

Publicado: *Herpetology Notes*. 2017. 10: 535-536.

**Food items in the rheophilic Torrent Frog *Megaelosia apuana* Pombal et al., 2003
(Anura, Hylodidae)**

Guilherme Augusto Alves^{1,2,*} and Luís Felipe Toledo²

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo 13083-970, Brazil

²Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros, Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Rua Monteiro Lobato, 255 – Sala 19 Campinas, São Paulo 13083-862, Brazil

*Corresponding author e-mail: alves.guilherme.augusto@gmail.com

The genus *Megaelosia* Miranda-Ribeiro, 1923 (Anura, Hylodidae) is endemic to the Atlantic Forest, and includes medium- to large-sized species (adult male SVL from 8 to 12 cm) associated with clear and cold streams occurring at elevations of at least 800 m (Giaretta et al., 1993; Giaretta and Aguiar 1998; Haddad et al. 2013). Species of this genus are rarely studied because of their relatively low abundance, restricted distribution, and cryptic behaviour. They are also difficult to observe, as both males and females of all species are voiceless and skittish (Lutz, 1930; Giaretta et al., 1993; Pombal et al., 2003). Consequently, information on the natural history of the seven species of *Megaelosia* is scarce. Information of food items is known for a few individuals of *M. goeldii* (Baumann, 1912) and *M. massarti* (De Witte, 1930), based on stomach contents and a disgorged bolus (Giaretta et al., 1993). The diets of these individuals were composed of arthropods [cockroaches (Blattaria), beetles (Coleoptera), caterpillars (Lepidoptera)], earthworms (Oligochaeta), and another stream-dwelling frog (*Hylodes asper*). Additionally, predation was also observed on another anuran species (Hylidae, Hylodidae, Brachycephalidae) in a field experiment (Giaretta et al., 1993). Finally, there exists one report of an individual of *M. apuana* attempting and failing to prey upon a *Proceratophrys boiei* (Peloso and Pavan, 2007).

While conducting a field research between October 2015 and January 2017 in the Parque Nacional do Caparaó, Alto Caparaó Municipality, Minas Gerais State, Brazil, we filmed the feeding activity of four adult *M. apuana*. The images were obtained by screening of a total of 40 hours of video recorded using a GoPro Hero 3+ Black Edition and a Sony DCR-SR47 camera, which were positioned in front of the focal individual and set to record for two uninterrupted hours. Recordings were edited in a unique file and deposited in the video collection of the Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard, Zoology Museum “Prof. Adão J. Cardoso”, Universidade Estadual de

Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil (FNJV 1000373 – available online at <http://www2.ib.unicamp.br/fnjv/collection.php?fnjv=1000373>).

Five potential prey species were observed using the video. (1) An unidentified moth (Insecta, Lepidoptera) was seen on a twig when the frog approached, then jumped to eat it. (2) An unidentified firefly (Insecta; Coleoptera) fell in the water close to the frog, which quickly turned toward the prey and captured it. (3) A aquatic bug, *Limnocoris brasiliensis* (Insecta; Hemiptera) swam close to the frog, which quickly turned toward it and ate it. (4) The frog jumped into the water to pursue a fish, *Trichomycterus* sp. (Actinopterygii, Siluriformes, Trichomycteridae), that tried to swim under a rock; the fish was captured before it could escape. (5). A treefrog, *Ololygon* sp. (Anura, Hylidae) sat in front of an adult *M. apuana*, which approached the prey and ate it. It appears that in all cases described the individuals of *M. apuana* were visually oriented when detecting and capturing the prey item. All observations occurred between 19:00 h and 21:00 h, in the Caparaó River (-20.4194° S, -41.8464°W, elevation 1180 m).

Food items in the diet of *M. apuana*, as well as those of *M. goeldii* and *M. massarti*, indicate that these species are generalists, as already suggested by Santos (2013). Feeding ecology studies of other species in the family Hylodidae also indicate generalist habits. For example, the diet of *Hylodes nasus* comprises Annelida, Arachnida, Chilopoda, Crustacea, Diplopoda, and Insecta (Machado et al., 2016), whereas the diet of *H. phyllodes* includes Arachnida, Chilopoda, Crustacea, and Insecta (Almeida-Gomes et al., 2007). The diet of *Crossodactylus gaudichaudii* is composed of Arachnida, Crustacea, Mollusca, and Insecta (Almeida-Gomes et al., 2007), and the diet of *C. schmidtii* featured Arachnida, Mollusca, and Insecta (Caldart et al., 2012). Thus,

we suggest that a generalist diet is a shared characteristic among species of the family Hyloidae.

Many animals contribute to the energy flux between environments, for example by transferring resources from terrestrial to the aquatic systems, or vice-versa (Ballinger and Lake, 2006). Indeed, our observations suggest that post-metamorphic individuals of *M. apuana* promote energy transfer between terrestrial and aquatic systems, since they prey upon both aquatic and terrestrial animals.

During our observations, we noted a high level of site fidelity. The animals rarely abandoned the site where they were initially observed, and were observed at the very same location for several consecutive nights (Chapter 2; Augusto-Alves et al., 2018). Therefore, *M. apuana* may exhibit territoriality. Several studies have reported that species of the family Hyloidae will defend a site using acoustic or visual signals (Weygoldt and Carvalho e Silva, 1992; Haddad and Giaretta, 1999; Lingnau et al., 2008; de Sá et al., 2016). Most of these reports linked territoriality to a reproductive context. However, based on our observations, spacing between males in a stream could also guarantee a profitable feeding site. Consequently, territoriality in the family Hyloidae could also be related to feeding ecology as well as reproduction.

Acknowledgements

We thank Leandro Tacioli, Carolina Lambertini, Camila Zornosa Torres, Bruna Christina Dias, Luísa Ribeiro, and Alexandre Bertolazzi for their assistance in fieldwork; Flávio César Thadeo de Lima and Jean Carlo Mari Fanton for their assistance with the identification of organisms; Anat Belasen and Camila Zornosa Torres for reviewing the English. We acknowledge the assistance of staff at Parque

Nacional do Caparaó and the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio for granting permission to access the park, and for providing logistic support for the research (SISBio #52352-2); GAA and LFT are grateful to the São Paulo Research Foundation (FAPESP #2014/23388-7) and to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq #300896/2016-6), for funding this project. GAA thanks the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), for a fellowship.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ampla quantidade de informações que pudemos obter sobre a autoecologia de *Megaelosia apuana*, demonstra a importância de se empregar estudos de monitoramento populacional para obtenção de informações básicas sobre a biologia das espécies de anuros, para ambas as fases de desenvolvimento. Com essa metodologia coletamos dados de diurnidade, sazonalidade, perfil e taxa de crescimento individual. Ademais, validamos a metodologia de foto-identificação para reconhecimento individual para essa espécie, através do reconhecimento das manchas naturais da cauda dos girinos.

A descrição da sinalização visual, utilizando *display* do saco vocal, e comportamento agressivo em um contexto de territorialidade em *M. apuana* são os primeiros registros de interações comportamentais intraespecíficas para o gênero *Megaelosia*. Nosso estudo também reforçou a sugestão de que espécies compreendidas nesse grupo são realmente mudas. Essas informações abrem precedentes para que haja novos esforços de pesquisa com espécies desse grupo, visto que ainda diversas perguntas devem ser respondidas, dentre elas: O repertório comportamental é composto apenas por sinalização visual? Como se dá a comunicação para atração de parceiros reprodutivos? Como ocorre o *display* visual em espécies congêneras que não possuem sacos vocais (*M. goeldii*)?

Durante o período de triagem dos vídeos para obtenção de dados comportamentais, encontramos imagens que mostravam indivíduos adultos de *M. apuana* enquanto exerciam atividade alimentar, dessa forma, o terceiro capítulo dessa dissertação surgiu como uma necessidade de divulgar tais informações. A diversidade dos itens alimentares predados indicam que essa espécie possui dieta generalista,

entretanto estudos completos sobre sua ecologia alimentar devem ser empregados para confirmar tal informação.

REFERÊNCIAS

Introdução geral

- Alford, R. A. 1999. Resource use, competition, and predation. p240-278. *In*: McDiarmid, R. W. & Altig, R. *Tadpoles: The biology of anuran larvae*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Aichinger, M. 1987. Annual activity patterns of anurans in a seasonal neotropical environment. *Oecologia*, 71: 583-592.
- Bailey, L. L. & Nichols, J. D. 2010. Capture-mark-recapture, removal sampling, and occupancy models. p447-459. *In*: Kenneth, D. C. *Amphibian Ecology and Conservation. A Handbook of Techniques*. New York: Oxford University Press.
- Bardier, C. 2017. Demografía de *Melanophryniscus montevidensis* en un área protegida de Uruguay, posibles amenazas y estrategias de conservación. Unpublished PhD thesis, Universidad de la República Uruguay, Montevideo, Uruguay.
- Barros, A. B. & Feio, R. N. 2011. Visual communication in *Scinax maracaya* (Cardoso & Sazima, 1980) (Anura: Hylidae) at the Serra da Canastra National Park, southeastern Brazil. *Herpetol. Notes*, 4: 103-104.
- Barry, M. J. 2011. Effects of copper, zinc and dragonfly kairomone on growth rate and induced morphology of *Bufo arabicus* tadpoles. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 74: 918–923.
- Bee, M. A.; Perrill, S. A. & Owen, P. C. 2000. Male green frogs lower the pitch of acoustic signals in defense of territories: a possible dishonest signal size? *Behav. Ecol.*, 11(2): 169-177.
- Bekhet, G. A.; Abdou, H. A.; Dekinesh, S. A.; Hussein, H. A. & Sebiae, S. S. 2014. Biological factors controlling developmental duration, growth and metamorphosis of the larval green toad, *Bufo viridis viridis*. *J. Basic. Appl. Zool.*, 67: 67–82.

- Bertoluci, J. & Rodrigues, M. T. 2002. Seasonal patterns of breeding activity of Atlantic Rainforest anurans at Boracéia, Southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 23: 161-167.
- Bradfield, K. S. 2004. Photographic identification of individual Archey's frogs, *Leiopelma archeyi*, from natural markings. *Doc. Science Internal Series 191*, Dept. of Conservation, New Zealand.
- Bradshaw, C. J. A.; Mollet, H. F. & Meekan, M. G. 2007. Inferring population trends for the world's largest fish from mark-recapture estimates of survival. *J. Anim. Ecol.*, 76: 480–489.
- Brady L. D. & Griffiths, R. A. 2000. Developmental responses to pond desiccation in tadpoles of the British anuran amphibians (*Bufo bufo*, *B. calamita* and *Rana temporaria*). *J. Zool.*, 252: 61–69.
- Brasil. 2015. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Portaria N°48, de 06 de outubro de 2015.
- Caldart, V. M.; Iop, S. & Cechin, S. Z. 2014. Social interactions in a neotropical stream frog reveal a complex repertoire of visual signals and the use of multimodal communication. *Behaviour*, 151: 719–739.
- Caldart, V. M.; Iop, S.; Lingnau, R. & Cechin, S. Z. 2016. Communication in a noisy environment: short-term acoustic adjustments and the underlying acoustic niche of a Neotropical stream-breeding frog. *Acta Ethol*, 19: 151–162.
- Caldart, V. M.; Santos, M. B.; Iop, S.; Pinho, L. C. & Cechin, S. Z. 2016. Hematophagous flies attracted to frog calls in a preserved seasonal forest of the Austral Neotropics, with a description of a new species of *Corethrella* (Diptera: Corethrellidae). *Zool. Sci.*, 33: 527–536.
- Cunnington, G. M. & Fahrig, L. 2010. Plasticity in the vocalizations of anurans in

- response to traffic noise. *Acta Oecol.*, 36: 463-470.
- de Sá, F. P.; Zina, J. & Haddad, C. F. B. 2016. Sophisticated communication in the Brazilian torrent frog *Hylodes japi*. *PLoS ONE*, 11(1): e0145444.
- Emerson, S. B. & Inger, R. F. 1992. The comparative ecology of voiced and voiceless Bornean. *J. Herpetol.*, 26(4): 482-490.
- Fatorelli, P. & Rocha, F. D. 2008. O que molda a distribuição das guildas de girinos tropicais? Quarenta anos de busca por padrões. *Oecologia Aust.*, 12: 733–742.
- Ferreira-Silva, C.; Oliveira, D. B; Oliveira, H. F. O. & A'vila, R. W. 2016. Spatial and temporal distribution in two anuran communities in the Chapada do Araripe, Northeastern Brasil. *Biota Neotrop.*, 16(1): e0166.
- Forti, L. R.; Mott, T. & Strüssmann, C. 2013. Breeding biology of *Ameerega braccata* (Steindachner, 1864) (Anura: Dendrobatidae) in the Cerrado of Brazil. *J. Nat. Hist.*, 47: 2363-2371.
- Frost, D. R. 2017. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0. Electronic database accessible at American Museum of Natural History, New York, USA. <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>>. Downloaded on 30 June 2017.
- Espírito Santo. 2005. *Lista Estadual da Fauna Ameaçada de Extinção*. Decreto de Lei número 1499-R de 13 de junho de 2005. Diário Oficial, Vitória, Espírito Santo 14 de junho de 2005: 4-5.
- Galvis, P. A.; Caorsi, V. Z.; Sánchez-Pacheco, S. J. & Rada, M. 2016. The advertisement calls of three *Eleutherodactylus* species from Hispaniola (Anura: Eleutherodactylidae). *Bioacoustics*, 27(1): 1-12.
- Gerhardt, H. C. & Huber, F. 2002. *Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions*. Chicago e Londres: University of

- Chicago Press. 531 p.
- Gervasi, S. S. & Foufopoulos, J. 2008. Costs of plasticity: responses to desiccation decrease post-metamorphic immune function in a pond-breeding amphibian. *Funct. Ecol.*, 22: 100–108.
- Giaretta, A. A.; Bokermann, W. C. A. & Haddad, C. F. B. 1993. A review of the genus *Megaelosia* (Anura: Leptodactylidae) with a description of a new species. *J. Herpetol.*, 27: 276-285.
- Gingras, B. M.; Boeckle, M.; Herbst, C. T & Fitch, W. T. 2013. Call acoustics reflect body size across four clades of anurans. *J. Zool.*, 289: 143–150.
- Goldstein, J. A.; Hoff, K. S. & Hillyard, S. D. 2017. The effect of temperature on development and behaviour of relict leopard frog tadpoles. *Conserv. Physiol.*, 5: 1–8.
- Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16: 183-190.
- Grafe, T. U.; Kaminsky, S. K.; Bitz, J. H.; Lüssow, H. & Linsenmair, K. E. 2004. Demographic dynamics of the afro-tropical pig-nosed frog, *Hemisus marmoratus*: Effects of climate and predation on survival and recruitment. *Oecologia*, 141: 40–46.
- Grafe, T. U.; Preininger, D.; Sztatecsny, M.; Kasah, R.; Dehling, M.; Proksch, S. & Höld, W. 2012. Multimodal communication in a noisy environment: a case study of the Bornean rock frog *Staurois parvus*. *PloS One*, 7(5): e37965.
- Haddad, C. F. B. & Giaretta, A. A. 1999. Visual and acoustic communication in the Brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica*, 55(3): 324-333.

- Haddad, C. F. B.; Toledo, L. F.; Prado, C. P. A.; Loebmann, D.; Gasparini, J. L. & Sazima, I. 2013. Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica - Diversidade e Biologia. 1st Edition. Anolis Books Editora.
- Haywood, L. K.; Alexander, G. J.; Byrne, M. J. & Cukrowska, E. 2004. *Xenopus laevis* embryos and tadpoles as models for testing for pollution by zinc, copper, lead and cadmium. *African. Zool.*, 39: 163–174.
- Heyer, W. R.; Donnelly, M. A.; McDiarmid, R. W.; Hayek, L. C. & Foster, M. 1994. Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for amphibians. Smithsonian Institution Press. Washington and London.
- Hoff, K. S.; Blaustein, A. R.; McDiarmid, R. W. & Altig, R. 1999. Behavior: Interactions and their consequences. p. 215-239. In: McDiarmid, R. W. & Altig, R. *Tadpoles: The biology of anuran larvae*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Hödl, W. & Amézquita, A. 2001. Visual signaling in anuran amphibians. In: Anuran communication, p. 121-141. Ryan, M. J., Smithsonian Institution Press. Washington and London.
- ICMBio, 2015. Plano de manejo para Parque Nacional do Caparaó. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Diretoria de Criação e Manejo de Unidades de Conservação (DiMan). 537p.
- IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015-4. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 16 February 2016.
- Jackson, R. M.; Roe, J. D.; Wangchuk, R. & Hunter, D. 2006. Estimating snow leopard population abundance using photography and capture–recapture techniques. *Wildl. Soc. Bull.*, 34: 772–781.
- Köhler, J.; Jansen, M.; Rodríguez, A.; Kok, P. J. R.; Toledo, L. F.; Emmrich, M.; Glaw,

- F.; Haddad, C. F. B.; Rödel, M. O. & Vence, M. 2017. The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa*, 4251(1): 001–124.
- Lee, J. S. F. & Waldman, B. 2002. Communication by fecal chemosignals in an Archaic Frog, *Leiopelma hamiltoni*. *Copeia*, 3: 679-686.
- Lingnau, R.; Canedo, C. & Pombal Jr., J. P. 2008: A new species of *Hylodes* (Anura: Hylodidae) from the Brazilian Atlantic forest. *Copeia*, 3: 595-602.
- Lipinski, V. M.; Caldart, V. M. & Iop, S. 2012. Visual communication in *Hypsiboas curupi* (Anura: Hylidae) at Parque Estadual do Turvo, southern Brazil. *Phyllomedusa*, 11(1): 71–7.
- Llamas, I.; Flores, E. E.; Abrego, M. E.; Seminoff, J. A.; Hart, C. E.; Donadi, R.; Penã, B.; Alvarez, G. & Podeva, W. 2017. Distribution, size range and growth rates of hawksbill turtles at a major foraging ground in the eastern Pacific Ocean. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 45: 597–605.
- Lutz, A. 1930. Observações sobre batrachios brasileiros. Taxonomia e biologia das Elosiinas. p. 195-222. Instituto Osvaldo Cruz, Rio de Janeiro.
- Maciel, T. A. & Juncá, F. A. 2009. Effects of temperature and volume of water on the growth and development of tadpoles of *Pleurodema diplolister* and *Rhinella granulosa* (Amphibia: Anura). *Zool.*, 26: 413–418.
- Malagoli, L. R.; de Sá, F. P.; Canedo, C. & Haddad, C. F. B. 2017. A new species of *Hylodes* (Anura, Hylodidae) from Serra do Mar, southeastern Brazil: the fourth with nuptial thumb tubercles. *Herpetologica*, 73: 136–147.
- McClelland, B. E.; Wilczynski, W. & Ryan, M. J. 1996. Correlations between call characteristics and morphology in male cricket frogs (*Acris crepitans*). *J. Exp. Biol.*, 199: 1907-1919.

- Morrison, T. A.; Keinath, D.; Estes-Zumpf, W.; Crall, J. P. & Stewart, C. V. 2016. Individual identification of the endangered wyoming toad *Anaxyrus baxteri* and implications for monitoring species recovery. *J. Herpetol.*, 50: 44–49.
- Narins, P. M. & Smith, S. L. 1986. Clinal variation in anuran advertisement calls: basis for acoustic isolation? *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 19: 135-141.
- Narvaes, P. & Rodrigues, M. T. 2005. Visual communication, reproductive behavior, and home range of *Hylodes dactylocinus* (Anura, Leptodactylidae). *Phyllomedusa*, 4(2): 147-158.
- Navas, C. A. 1996. Implications of microhabitat selection and patterns of activity on the thermal ecology of high elevation neotropical anurans. *Oecologia*, 108: 617–626.
- Nunes-de-Almeida, C. H. L.; Assis, C. L.; Feio, R. N. & Toledo, L. F. 2016. Redescription of the advertisement call of five species of *Thoropa* (Anura, Cycloramphidae), including recordings of rare and endangered species. *PLoS ONE*, 11(9): e0162617.
- Page, R. A. & Ryan, M. J. 2008. The effect of signal complexity on localization performance in bats that localize frog calls. *Anim. Behav.*, 76: 761e769.
- Parris, K. M.; Velik-Lord, M. & North, J. M. A. 2009. Frogs call at a higher pitch in traffic noise. *Ecol. Soc.*, 14(1): 25.
- Pellet, J.; Helfer, V. & Yannic, G. 2007. Estimating population size in the European tree frog (*Hyla arborea*) using individual recognition and chorus counts. *Amphibia-Reptilia*, 28: 287–294.
- Peter, A. H. 2001. Survival in adults of the water frog *Rana lessonae* and its hybridogenetic associate *Rana esculenta*. *Can. J. Zool.*, 79: 652–661.
- Phillott, A. D.; Skerratt, L.; McDonald, K. R.; Lemckert, F. L.; Hines, H. B.; Clarke, J. M.; Alford, R. A. & Speare, R. 2017. Toe-Clipping as an acceptable method of

- identifying individual anurans in mark recapture studies. *Herpetol. Rev.*, 38(3): 305-308.
- Pombal-Jr., J. P.; Prado, G. M. & Canedo, C. 2003. A new species of giant torrent frog, genus *Megaelosia*, from the Atlantic Rain Forest of Espírito Santo, Brazil (Amphibia: Leptodactylidae) Espírito Santo, Brazil. *J. Herpetol.*, 37: 453–466.
- Pombal-Jr., J. P. 2004. *Megaelosia apuana*. In IUCN 2010. *IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017.2*. Electronic Database accessible at <http://www.iucnredlist.org/>. Downloaded on 01 November 2017.
- Prado, C. P. A.; Uetenabaro, M. & Haddad, C. F. B. 2005. Breeding activity patterns, reproductive modes, and habitat use by anurans (Amphibia) in a seasonal environment in the Pantanal, Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 26: 211-221.
- Relyea, R. A. 2001. Morphological and behavioral plasticity of larval anurans in response to different predators. *Ecology*, 82: 523–540.
- Ribeiro, J. & Rebelo, R. 2011. Survival of *Alytes cisternasii* tadpoles in stream pools: a capture-recapture study using photo-identification. *Amphibia-Reptilia*, 32: 365–374.
- Ryan, M. J.; Tuttle, M. D. & Taft, L. K. 1981. The costs and benefits of frog chorusing behavior. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 8: 273-278.
- Ryan, M. J.; Tuttle, M. D. & Rand, S. 1982. Bat predation and sexual advertisement in a Neotropical anuran. *Am. Nat.*, 119(1): 136-139.
- Santos, P. S.; Silva, E. T.; Felhberg, B. H. B.; Santos, M. T. T. & Garcia, P. C. A. 2011. Amphibia, anura, hylodidae, *Megaelosia apuana* Pombal, Prado and Canedo, 2003: Distribution extension, new state record and geographic distribution map. *Check List*, 7: 394–396.
- Seebacher, F. & Alford, R. A. 2002. Shelter microhabitats determine body temperature

- and dehydration rates of a terrestrial amphibian (*Bufo marinus*). *J. Herpetol.*, 36: 69–75.
- Skelly, D. K. & Werner, E. E. 1990. Behavioral and life-historical responses of larval american toads to an odonate predator. *Ecology*, 71: 2313–2322.
- Suthers, R. A.; Narins, P. M.; Lin, W.; Schnitzler, H.; Denzinger, A.; Xu, C. & Feng, A. S. 2006. Voices of the dead: complex nonlinear vocal signals from the larynx of an ultrasonic frog. *J. Exp. Bio.*, 209: 4984-4993.
- Tracy, C. R.; Christian, K. A.; O'Connor, M. P. & Tracy, C. R. 1993. Behavioral thermoregulation by *Bufo americanus*: The importance of the hydric environment *Herpetologica*, 49: 375–382.
- Ultsch, G. R.; Bradford, D. F. & Freda, J. 1999. Physiology - coping with the environment. p 189-214. *In*: McDiarmid, R. W. & Altig, R. *Tadpoles: The biology of anuran larvae*. Chicago: The University of Chicago Press.
- van Buskirk, J. & Arioli, M. 2002. Dosage response of an induced defense: how sensitive are tadpoles to predation risk? *Ecology*, 83: 1580-1585.
- Vargas-Salinas F. & Amézquita, A. 2013. Abiotic noise, call frequency and stream-breeding anuran assemblages. *Evol. Ecol.*, 28: 341–359.
- Vences, M.; Puente, M.; Nieto, S. & Vieites, D. R. 2002. Phenotypic plasticity of anuran larvae: environmental variables influence body shape and oral morphology in *Rana temporaria* tadpoles. *J. Zool.*, 257: 155–162.
- Wells, K. D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*, 25: 666-693.
- Wells, K. D. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press. Chicago and London.

- Weygoldt, P.; Carvalho-e-Silva, S. P. 1992. Mating and oviposition in the hyloidine frog *Crossodactylus gaudichaudii* (Anura: Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia*, 13: 35-45.
- Wilczynski, W. & Chu, J. 2001. Acoustic communication, endocrine control, and the neurochemical systems of the brain. *In: Anuran Communication*, p 23-35. Ryan, M. J., Smithsonian Institution Press. Washington and London.
- Wu, H. J.; Yen, C. F. & Kam, Y. C. 2007. Metabolic compensation and behavioral thermoregulation of subtropical rhacophorid (*Polypedates megacephalus*) tadpoles in container habitats. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 146: 101–106.
- Ximenez, S. S. & Tozetti, A. M. 2015. Seasonality in anuran activity and calling season in a Brazilian subtemperate wetland. *Zool. Stud.*, DOI 10.1186/s40555-015-0125-8.

Capítulo 1

- Afonso, L. G. & Eterovick, P. C. 2007. Spatial and temporal distribution of breeding anurans in streams in southeastern Brazil. *J. Nat. Hist.*, 41: 949–963.
- Alves, G. A. & Toledo, L. F. 2017. Food items in the rheophilic Torrent Frog *Megaelosia apuana* Pombal et al., 2003 (Anura; Hylodidae). *Herpetol. Notes*, 10: 535-536.
- Alford, R. A. 1999. Resource use, competition, and predation. p240-278. *In: McDiarmid, R. W. & Altig, R. Tadpoles: The biology of anuran larvae*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Almeida-Gomes, M.; Laia, R. C.; Hatano, F. H.; Van Sluys, M. & Rocha, C. F. D. 2012. Population dynamics of tadpoles of *Crossodactylus gaudichaudii* (Anura:

- Hylodidae) in the Atlantic Rainforest of Ilha Grande, southeastern Brazil. *J. Nat. Hist.*, 46: 2725–2733.
- Álvarez, D. & Nicieza, A. G. 2002. Effects of temperature and food quality on anuran larval growth and metamorphosis. *Funct. Ecol.*, 16: 640–648.
- Augusto-Alves, G.; Dena, S. A. & Toledo, L. F. 2018. Visual communication and aggressive behaviour in a giant mute torrent-frog, *Megaelosia apuana* (Anura; Hylodidae). *Amphibia-Reptilia*, 39(2): 260-264.
- Bardier, C. 2017. Demografía de *Melanophryniscus montevidensis* en un área protegida de Uruguay, posibles amenazas y estrategias de conservación. Unpublished PhD thesis, Universidad de la República Uruguay, Montevideo, Uruguay.
- Barry, M. J. 2011. Effects of copper, zinc and dragonfly kairomone on growth rate and induced morphology of *Bufo arabicus* tadpoles. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 74: 918–923.
- Bastos, R. P. & Pombal-Jr., J. P. 1995. New species of *Crossodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic Rain Forest of Southeastern Brazil. *Copeia*, 1995: 436–439.
- Bekhet, G. A.; Abdou, H. A.; Dekinesh, S. A.; Hussein, H. A. & Sebiae, S. S. 2014. Biological factors controlling developmental duration, growth and metamorphosis of the larval green toad, *Bufo viridis viridis*. *J. Basic. Appl. Zool.*, 67: 67–82.
- Brady L. D. & Griffiths, R. A. 2000. Developmental responses to pond desiccation in tadpoles of the British anuran amphibians (*Bufo bufo*, *B. calamita* and *Rana temporaria*). *J. Zool.*, 252: 61–69.
- Caldart, V. M.; Iop, S.; Lingnau, R. & Cechin, S. Z. 2016. Calling activity of a stream breeding frog from the Austral Neotropics: temporal patterns of activity and the role of environmental factors. *Herpetologica*, 72: 90–97.

- Canelas, M. A. S. & Bertoluci, J. 2007. Anurans of the Serra do Caraça, southeastern Brazil: species composition and phenological patterns of calling activity. *Iheringia Série Zool.*, 97: 21–26.
- Conte, C. E. & Rossa-Feres, D. D. C. 2006. Diversidade e ocorrência temporal da anurofauna (Amphibia, Anura) em São José dos Pinhais, Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Zool.*, 23: 162–175.
- Costa, P. N.; Silva-Soares, T.; Weber, L. N. & Carvalho-e-Silva, A. M. T. 2010a. Redescription of tadpoles of the hylodid frog *Hylodes asper* (Müller, 1924). *Zootaxa*, 2521: 65-68.
- Costa, P. N.; Siqueira, C. C.; Vrcibradic, D.; Weber, L. N. & Rocha, C. F. D. R. 2010b. The tadpole of the hylodid frog *Hylodes charadranaetes* Heyer and Cocroft, 1986. *Zootaxa*, 2680: 65-68.
- Costa, T. R. N.; Lingnau, R. & Toledo, L. F. 2009. The tadpole of the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura; Hylidae) from Brazil. *Zootaxa*, 2222: 66-68.
- de Sá, F. P.; Canedo, C.; Lyra, M. L. & Haddad, C. F. B. 2015. A new species of *Hylodes* (Anura, Hylodidae) and its secretive underwater breeding behavior. *Herpetologica*, 71: 58–71.
- Duellman, W. E. & Trueb, L. 1994. Biology of Amphibians. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press.
- Faivovich, J. 1998. Comments on the larvae of the Argentine species of the genus *Crossodactylus* (Leptodactylidae, Hylodinae). *Alytes*, 16: 61-67.
- Fatorelli, P.; Pereira, E. G.; Almeida-Gomes, M. & Rocha, C. F. D. 2015. Population dynamics of *Hylodes uai* tadpoles (Anura, Hylodidae) in a Tropical Forest stream, Southeastern Brazil. *J. Herpetol.*, 49: 23–27.
- Fatorelli, P. & Rocha, F. D. 2008. O que molda a distribuição das guildas de girinos

- tropicais? Quarenta anos de busca por padrões. *Oecologia Aust.*, 12: 733–742.
- Gervasi, S. S. & Foufopoulos, J. 2008. Costs of plasticity: responses to desiccation decrease post-metamorphic immune function in a pond-breeding amphibian. *Funct Ecol.*, 22: 100–108.
- Giaretta, A. A.; Bokermann, W. C. A. & Haddad, C. F. B. 1993. A review of the genus *Megaelosia* (Anura: Leptodactylidae) with a description of a new species. *J. Herpetol.*, 27: 276–285.
- Giaretta, A. A. & Aguiar-Jr., O. 1998. A new species of *Megaelosia* from the Mantiqueira range, south-eastern Brazil. *J. Herpetol.*, 32: 80–83.
- Goldstein, J. A.; Hoff, K. S. & Hillyard, S. D. 2017. The effect of temperature on development and behaviour of relict leopard frog tadpoles. *Conserv. Physiol.*, 5: 1–8.
- Grafe, T. U.; Kaminsky, S. K.; Bitz, J. H.; Lüssow, H. & Linsenmair, K. E. 2004. Demographic dynamics of the afro-tropical pig-nosed frog, *Hemisus marmoratus*: Effects of climate and predation on survival and recruitment. *Oecologia*, 141: 40–46.
- Haddad, C. F. B. & Pombal-Jr., J. P. 1995. A new species of *Hylodes* from southeastern Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). *Herpetologica*, 51: 279–286.
- Haddad, C. F. B.; Pombal-Jr. J. P. & Bastos, R. P. 1996. New Species of *Hylodes* from the Atlantic Forest of Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). *Copeia*, 1996(4): 965–969.
- Haddad, C. F. B. & Giaretta, A. A. 1999. Visual and acoustic communication in the Brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica*. 55(3): 324–333.

- Haddad, C. F. B.; Garcia, P. C. A. & Pombal-Jr., J. P. 2003. Redescritção de *Hylodes perplicatus* (Miranda-Ribeiro, 1926) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arq. Mus. Nac.*, 61(4): 245-254.
- Haddad, C. F. B.; Toledo, L. F.; Prado, C. P. A.; Loebmann, D.; Gasparini, J. L. & Sazima, I. 2013. Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica - Diversidade e Biologia. 1st Edition. Anolis Books Editora.
- Hatano, F. H.; Rocha, C. F. D. & van Sluys, M. 2002. Environmental factors affecting calling activity of a tropical diurnal frog (*Hylodes phyllodes*: Leptodactylidae). *J. Herpetol.*, 36: 314–318.
- Haywood, L. K.; Alexander, G. J.; Byrne, M. J. & Cukrowska, E. 2004. *Xenopus laevis* embryos and tadpoles as models for testing for pollution by zinc, copper, lead and cadmium. *African. Zool.*, 39: 163–174.
- Heyer, W. R.; Rand, A. S.; Cruz, C. A. G.; Peixoto, O. L. & Nelson, C. E. 1990. Frogs of Boracéia. *Arq. Zool.*, 31: 231-410.
- Heyer, W. R.; Donnelly, M. A.; McDiarmid, R. W.; Hayek, L. C. & Foster, M. 1994. Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for amphibians. Smithsonian Institution Press. Washington and London.
- Hoff, K. vS.; Blaustein, A. R.; McDiarmid, R. W. & Altig, R. 1999. Behavior: Interactions and their consequences. p215-239. *In*: McDiarmid, R. W. & Altig, R. *Tadpoles: The biology of anuran larvae*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Istock, C. A. 1967. The evolution of complex life cycle phenomena: an ecological perspective. *Evolution*, 21: 592-605.
- Laurila, A.; Järvi-Laturi, M.; Pakkasmaa, S. & Merila, J. 2004. Temporal variation in predation risk: stage-dependency, graded responses and fitness costs in tadpole

- antipredator defences. *Oikos*, 107: 90-99.
- Lingnau, R. & Bastos, R. P. 2007. Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on advertisement call variation. *J. Nat. Hist.*, 41: 1227–1235.
- Lingnau, R.; Zank, C.; Colombo, P. & Kwet, A. 2013. Vocalization of *Hylodes meridionalis* (Mertens 1927) (Anura, Hylodidae) in Rio Grande do Sul, Brazil, with comments on nocturnal calling in the family Hylodidae. *Stud. Neotrop. Fauna Environ.*, 48: 76–80.
- Maccan, T. 1977. The fauna in the vegetation of a moorland fishpond as revealed by different methods of collecting. *Hydrobiologia*, 55: 3-15.
- Maciel, T. A. & Juncá, F. A. 2009. Effects of temperature and volume of water on the growth and development of tadpoles of *Pleurodema diplolister* and *Rhinella granulosa* (Amphibia: Anura). *Zool.*, 26: 413–418.
- Malagoli, L. R.; de Sá, F. P.; Canedo, C. & Haddad, C. F. B. 2017. A new species of *Hylodes* (Anura, Hylodidae) from Serra do Mar, southeastern Brazil: the fourth with nuptial thumb tubercles. *Herpetologica*, 73: 136–147.
- Miner, B. G.; Sultan, S. E.; Morgan, S. G.; Padilla, D. K. & Relyea, R. A. 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends Ecol. Evol.*, 20: 685–692.
- Moody, E. K.; Rugenski, A. T.; Sabo, J. L.; Turner, B. L. & Elser, J. J. 2017. Does the growth rate hypothesis apply across temperatures? Variation in the growth rate and body phosphorus of Neotropical benthic grazers. *Front. Environ. Sci.*, doi: 10.3389/fenvs.2017.00014.
- Moore, M. K. & Townsend-Jr. V. R. 1998. The interaction of temperature, dissolved oxygen and predation pressure in an aquatic predator-prey system. *Oikos*, 81(2):

329-336.

Morrison, T. A.; Keinath, D.; Estes-Zumpf, W.; Crall, J. P. & Stewart, C. V. 2016.

Individual identification of the endangered wyoming toad *Anaxyrus baxteri* and implications for monitoring species recovery. *J. Herpetol.*, 50: 44–49.

Nascimento, L.; Feio, R. & Cruz, C. 2005 A new species of diurnal frog in the genus

Crossodactylus Duméril and Bibron, 1841 (Anura, Leptodactylidae) from Southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 26: 497–505.

Navas, C. A. 1996. Implications of microhabitat selection and patterns of activity on the thermal ecology of high elevation neotropical anurans. *Oecologia*, 108: 617–626.

Nogueira-Costa, P.; Almeida-Santos, P.; Cruz, C. A. G. & Caramaschi, U. 2012. The giant tadpoles of *Megaelosia jordanensis* (Heyer, 1983). *Zootaxa*, 3581: 86–88.

Padilla, D. K. & Savedo, M. M. 2013. A systematic review of phenotypic plasticity in marine invertebrate and plant systems. In: *Advances in Marine Biology*, v. 65, pp. 67–94. Academic Press, London, UK.

Pellet, J.; Helfer, V. & Yannic, G. 2007. Estimating population size in the European tree frog (*Hyla arborea*) using individual recognition and chorus counts. *Amphibia-Reptilia*, 28: 287–294.

Pombal-Jr., J. P.; Prado, G. M.; Canedo, C. 2003. A new species of giant torrent frog, genus *Megaelosia*, from the Atlantic Rain Forest of Espírito Santo, Brazil (Amphibia: Leptodactylidae) Espírito Santo, Brazil. *J. Herpetol.*, 37: 453–466.

Pombal-Jr., J. P. 2004. *Megaelosia apuana*. In IUCN 2010. *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2017.2. Electronic Database accessible at <http://www.iucnredlist.org/>. Downloaded on 01 November 2017.

Relyea, R. A. 2001. Morphological and behavioral plasticity of larval anurans in

- response to different predators. *Ecology*, 82: 523–540.
- Relyea, R. A. 2002. Local population differences in phenotypic plasticity: predator-induced changes in wood frog tadpoles. *Ecol Monogr.*, 72: 77-93.
- Relyea, R. A. 2004. Fine-tuned phenotypes: tadpole plasticity under 16 Combinations of predators and competitors. *Ecology*, 85: 172–179.
- Ribeiro, J. & Rebelo, R. 2011. Survival of *Alytes cisternasii* tadpoles in stream pools: a capture-recapture study using photo-identification. *Amphibia-Reptilia*, 32: 365–374.
- Riberiro, O. M. & Zuanon, J. 2006. Comparação da eficiência de dois métodos de coleta de peixes em igarapés de terra firme da Amazônia Central. *Acta Amaz.*, 36(3): 389-394.
- Santos, P. S.; Silva, E. T.; Felhberg, B. H. B.; Santos, M. T. T.; Garcia, P. C. A. 2011. Amphibia, anura, hylodidae, *Megaelosia apuana* Pombal, Prado and Canedo, 2003: Distribution extension, new state record and geographic distribution map. *Check List*, 7: 394–396.
- Santos, P. S. 2013. Herpetofauna do Corredor Sossego-caratinga, Mata Atlântica no sudeste do Brasil: estrutura das comunidades e influência da paisagem. Unpublished PhD thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil
- Schlichting, C. D. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 17: 667-693.
- Seebacher, F. & Alford, R. A. 2002. Shelter microhabitats determine body temperature and dehydration rates of a terrestrial amphibian (*Bufo marinus*). *J. Herpetol.*, 36: 69–75.
- Silva-Soares, T.; Nogueira-Costa, P.; Borges-Jr., V. N. T.; Weber, L. N. & Rocha, C. F.

- D. The larva of *Crossodactylus aeneus* Müller, 1924: morphology and ecology aspects. *Herpetologica*, 71: 46-57.
- Skelly, D. K. & Werner, E. E. 1990. Behavioral and life-historical responses of larval american toads to an odonate predator. *Ecology*, 71: 2313–2322.
- Tracy, C. R.; Christian, K. A.; O'Connor, M. P. & Tracy, C. R. 1993. Behavioral thermoregulation by *Bufo americanus*: The importance of the hydric environment *Herpetologica*, 49: 375–382.
- Ultsch, G. R.; Bradford, D. F. & Freda, J. 1999. Physiology - coping with the environment. p189-214. In: McDiarmid, R. W. & Altig, R. *Tadpoles: The biology of anuran larvae*. Chicago: The University of Chicago Press.
- van Buskirk, J. 2017. Spatially heterogeneous selection in nature favors phenotypic plasticity in anuran larvae. *Evolution*, 71: 1670–1685.
- van Buskirk, J. & Arioli, M. 2002. Dosage response of an induced defense: how sensitive are tadpoles to predation risk? *Ecology*, 83: 1580-1585.
- van Buskirk, J. & Relyea, R. A. 1998. Selection for phenotypic plasticity in *Rana sylvatica* tadpoles. *Biol. J. Linn. Soc.*, 65: 301–328.
- van Buskirk J.; Müller, C.; Portmann, A. & Surbeck, M. 2002. A test of the risk allocation hypothesis: tadpole responses to temporal change in predation risk. *Behav. Ecol.*, 13 (4): 526–530
- Vences, M.; Puente, M.; Nieto, S. & Vieites, D. R. 2002. Phenotypic plasticity of anuran larvae: environmental variables influence body shape and oral morphology in *Rana temporaria* tadpoles. *J. Zool.*, 257: 155–162.
- Vonesh, J. R. & De la Cruz, O. 2002. Complex life cycles and density dependence: assessing the contribution of egg mortality to amphibian declines. *Oecologia*, 133: 325–333.

- Wells, K. D. 2007. The Ecology and Behavior of Amphibians. The University of Chicago Press. Chicago and London.
- Wogel, H.; Weber, L. & Abrunhosa, P. 2004. The tadpole, vocalizations and visual displays of *Hylodes nasus* (Anura: Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia*, 25: 219–227.
- Wu, H. J.; Yen, C. F. & Kam, Y. C. 2007. Metabolic compensation and behavioral thermoregulation of subtropical rhacophorid (*Polypedates megacephalus*) tadpoles in container habitats. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.*, 146: 101–106.

Capítulo 2

- Alves, G.A., Toledo, L.F. (2017): Food items in the rheophilic Torrent Frog *Megaelosia apuana* Pombal et al., 2003 (Anura; Hylodidae). *Herpetol. Notes*. **10**: 535-536.
- Arch, V.S., Grafe, T.U., Narins, P.M. (2008): Ultrasonic signalling by a Bornean frog. *Biol. Lett.* **4**: 19-22.
- Barros, A.B., Feio, R.N. (2011): Visual communication in *Scinax maracaya* (Cardoso & Sazima, 1980) (Anura: Hylidae) at the Serra da Canastra National Park, southeastern Brazil. *Herpetol. Notes*. **4**: 103-104.
- Bee, M.A., Perrill, S.A., Owen, P.C. (2000): Male green frogs lower the pitch of acoustic signals in defense of territories: a possible dishonest signal size? *Behav. Ecol.* **11**(2): 169-177.
- Bee, M.A., Gerhardt, H.C. (2002): Individual voice recognition in a territorial frog (*Rana catesbeiana*). *Proc. R. Soc. Lond. B.* **269**: 1443–1448.
- Bell, B. (2010): The threatened Leiopelmatid frogs of New Zealand: Natural history integrates with conservation. *Herpetol. Conserv. Bio.* **5**(3): 515-528.

- Bilate, M., Nogueira-Costa, P., Weber, L.N. (2012): The tadpole of the hylodid frog *Hylodes ornatus* (Bokermann, 1967), including chondrocranium description, and advertisement call. *Zootaxa*. **3249**: 60–66.
- Caldart, V.M., Iop, S., Cechin, S.Z. (2014): Social interactions in a neotropical stream frog reveal a complex repertoire of visual signals and the use of multimodal communication. *Behaviour*. **151**: 719–739.
- Caldart, V.M., Iop, S., Lingnau, R., Cechin, S.Z. (2016): Communication in a noisy environment: short-term acoustic adjustments and the underlying acoustic niche of a Neotropical stream-breeding frog. *Acta Ethol*. **19**: 151–162.
- Canedo, C., Pombal Jr., J.P. (2007): Two new species of torrent frog of the genus *Hylodes* (Anura, Hylodidae) with nuptial thumb tubercles. *Herpetologica*. **63**(2): 224–235.
- Cohen, J.E., Pimm, S.L., Yodzis, P., Saldañas, J. (1993): Body sizes of animal predators and animal prey in food webs. *J. Ani. Ecol*. **62**: 67-78.
- Cunnington, G.M., Fahrig, L. (2010): Plasticity in the vocalizations of anurans in response to traffic noise. *Acta Oecol*. **36**: 463-470.
- de Sá, F.P., Canedo, C., Lyra, M.L., Haddad, C.F.B. (2015): A new species of *Hylodes* (Anura, Hylodidae) and its secretive underwater breeding behavior. *Herpetologica*. **71**(1): 58–71.
- de Sá, F.P., Zina, J., Haddad, C.F.B. (2016): Sophisticated communication in the Brazilian torrent frog *Hylodes japi*. *PLoS ONE*. **11**(1): e0145444.
- Dubois, A., Martens, J. (1984): A case of possible vocal convergence between frogs and a bird in Himalayan torrents. *J. Orn*. **125**: 455-463.
- Feng, A.S., Narins, P.M., Xu, C., Lin, W., Yu, Z., Qiu, Q., Xu, Z., Shen, J. (2006): Ultrasonic communication in frogs. *Nature*. **440**(16): 333-336.

- Forti, L.R., Mott, T., Strüssmann, C. (2013): Breeding biology of *Ameerega braccata* (Steindachner, 1864) (Anura: Dendrobatidae) in the Cerrado of Brazil. *J. Nat. Hist.* **47**: 2363-2371.
- Frost, D.R. (2017): Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0. Electronic database accessible at American Museum of Natural History, New York, USA. <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>>. Downloaded on 30 Jun 2017.
- Galvis, P.A., Caorsi, V.Z., Sánchez-Pacheco, S.J., Rada, M. (2016): The advertisement calls of three *Eleutherodactylus* species from Hispaniola (Anura: Eleutherodactylidae). *Bioacoustics*. doi: 10.1080/09524622.2016.1260053.
- Georgiev, A.V., Klimczuk, A.C.E., Traficonte, D.M., Maestripieri, D. (2013): When violence pays: a cost-benefit analysis of aggressive behavior in animals and humans. *Evol. Psychol.* **11**(3): 678–699.
- Giarretta, A.A., Bokermann, W.C.A., Haddad, C.F.B. (1993): A review of the genus *Megaelosia* (Anura: Leptodactylidae) with a description of a new species. *J. Herpetol.* **27**: 276-285.
- Giarretta, A.A., Aguiar Jr., O. (1998): A new species of *Megaelosia* from the Mantiqueira range, south- eastern Brazil. *J. Herpetol.* **32**(1): 80-83.
- Gingras, B.M., Boeckle, M., Herbst, C.T., Fitch, W.T. (2013): Call acoustics reflect body size across four clades of anurans. *J. Zool.* **289**: 143–150.
- Given, M.F. (1988): Territoriality and aggressive interactions of male carpenter frogs, *Rana virgatipes*. *Copeia*. **2**: 411-421.
- Gomez, D., Richardson, C., Lengagne, T., Plenet, S., Joly, P., Jean-Paul, L., Théry, M. (2009): The role of nocturnal vision in mate choice: females prefer conspicuous males in the European tree frog (*Hyla arborea*). *Proc. R. Soc. B.* **276**: 2351–2358.

- Grafe, T.U., Preininger, D., Sztatecsny, M., Kasah, R., Dehling, M., Proksch, S., Höld, W. (2012): Multimodal communication in a noisy environment: a case study of the Bornean rock frog *Staurois parvus*. PloS One. **7(5)**: e37965
- Greer, B.J., Wells, K.D. (1980): Territorial and reproductive behavior of the tropical American frog *Centrolenella fleischmanni*. Herpetologica. **36(4)**: 318-326.
- Emerson, S.B., Inger, R.F. (1992): The Comparative Ecology of Voiced and Voiceless Bornean. J. Herpetol. **26(4)**: 482-490.
- Haddad, C.F.B., Pombal Jr., J.P. (1995): A new species of *Hylodes* from Southeastern Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). Herpetologica. **51(3)**: 279-286.
- Haddad, C.F.B., Giaretta, A.A. (1999): Visual and acoustic communication in the Brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura: Leptodactylidae). Herpetologica. **55(3)**: 324-333.
- Haddad, C.F.B., Garcia, P.C.A., Pombal Jr., J.P. (2003): Redescrição de *Hylodes perplicatus* (Miranda-Ribeiro, 1926) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Arq. Mus. Nac. **61(4)**: 245-254.
- Haddad, C.F.B., Toledo, L.F., Prado, C.P.A., Loebmann, D., Gasparini, J.L., Sazima, I. (2013): Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica - Diversidade e Biologia. 1st Edition. Anolis Books Editora.
- Hartmann, M.T., Giasson, L.O.M., Hartmann, P.A., Haddad, C.F.B. (2005): Visual communication in Brazilian species of anurans from the Atlantic forest. J. Nat. Hist. **39(19)**: 1675-1685.
- Hartmann, M.T., Hartmann, P.A., Haddad, C.F.B. (2010): Reproductive modes and fecundity of an assemblage of anuran amphibians in the Atlantic rainforest, Brazil. Iheringia Sér. Zool. **100(3)**: 207-215.

- Heyer, W.R. (1982): Two new species of the frog genus *Hylodes* from Caparaó, Minas Gerais, Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* **95**(2): 377 – 385.
- Heyer, W.R., Cocroft, R.B. (1986): Descriptions of two new species of *Hylodes* from the Atlantic forests of Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* **99**(1): 100-109.
- Hirschmann, W., Hödl, W. (2006): Visual Signaling in *Phrynobatrachus krefftii* Boulenger, 1909 (Anura: Ranidae). *Herpetologica*. **62**(1): 18-27.
- Hödl, W., Amézquita, A. (2001): Visual signaling in anuran amphibians. In: *Anuran communication*, p. 121-141. Ryan, M.J., Smithsonian Institution Press. Washington and London.
- Hutter, R.C., Esobar-Lasso, S., Rojas-Morales, J.A., Gutiérrez-Cárdenas, P.D.A., Imba, H., Guayasamin, J.M. (2013): The territoriality, vocalizations and aggressive interactions of the red-spotted glassfrog, *Nymphargus grandisonae*, Cochran and Goin, 1970 (Anura: Centrolenidae). *J. Nat. Hist.* **47**: 3011-3032.
- Jacobson, S.K., Vanderberg, J.J. (1991): Reproductive ecology of the endangered golden toad (*Bufo periglenes*). *J. Herpetol.* **25**(3): 321-327.
- Katsikaros, K., Shine, R. (1997): Sexual dimorphism in the tusked frog, *Adelotus brevis* (Anura: Myobatrachidae): the roles of natural and sexual selection. *Biol. J. Linn. Soc.* **60**: 39–51.
- Kelber, A., Yovanovich, C., Olsson, P. (2016): Thresholds and noise limitations of colour vision in dim light. *Phil. Trans. R. Soc. B.* **372**: 20160065.
- Köhler, J., Jansen, M., Rodríguez, A., Kok, P.J.R., Toledo, L.F., Emmrich, M., Glaw, F., Haddad, C.F.B., Rödel, M.O., Vence, M. (2017): The use of bioacoustics in

- anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa*. **4251(1)**: 001–124.
- Kusano, T., Hayashi, T. (2002): Female size-specific clutch parameters of two closely related stream-breeding frogs, *Rana sakuraii* and *R. tagoi tagoi*: Female size-independent and size-dependent egg size. *Curr. Herpetol.* **21(2)**: 75-86.
- Lee, J.S.F., Waldman, B. (2002): Communication by fecal chemosignals in an Archaic Frog, *Leiopelma hamiltoni*. *Copeia*. **3**: 679-686.
- Lingnau, R., Bastos, R.P. (2007): Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura: Hylodidae): repertoire and influence of air temperature on advertisement call variation. *J. Nat. Hist.* **41**: 17-20.
- Lingnau, R., Canedo, C., Pombal Jr., J.P. (2008): A new species of *Hylodes* (Anura: Hylodidae) from the Brazilian Atlantic forest. *Copeia*. **3**: 595-602.
- Lipinski, V.M., Caldart, V.M., Iop, S. (2012): Visual communication in *Hypsiboas curupi* (Anura: Hylidae) at Parque Estadual do Turvo, southern Brazil. *Phyllomedusa*. **11(1)**: 71–7.
- Lutz, A. (1930): Observações sobre batrachios brasileiros. *Taxonomia e biologia das Elosiinas*. p. 195-222. Instituto Osvaldo Cruz, Rio de Janeiro.
- Machado, A.O., Winck, G., Dorigo, T.A., Rocha, C.F.D. (2016): Diet, diet activity pattern, habitat use, and reproductive effort of *Hylodes nasus* (Anura: Hylodidae) in one of the world's largest urban parks (Tijuca National Park), Southeastern Brazil. *S. Am. J. Herpetol.* **11(2)**: 127-135.
- Malagoli, L.R., de Sá, F.P., Canedo, C., Haddad, C.F.B. (2017): A new species of *Hylodes* (Anura, Hylodidae) from Serra do Mar, Southeastern Brazil: the fourth with nuptial thumb tubercles. *Herpetologica*. **73(2)**: 136–147.

- Martins, M., Pombal Jr., J.P., Haddad, C.F.B (1998): Escalated aggressive behaviour and facultative parental care in the nest building gladiator frog, *Hyla faber*. *Amphibia-Reptilia*. **19**: 65-73.
- McClelland, B.E., Wilczynski, W., Ryan, M.J. (1996): Correlations between call characteristics and morphology in male cricket frogs (*Acris crepitans*). *J. Exp. Biol.* **199**: 1907-1919.
- Monteiro, J.P.C., Comitti, E.J., Lingnau, R. (2014): First record of the torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura, Hylodidae) in Santa Catarina State, South Brazil and acoustic comparison with the cryptic species *Hylodes perplicatus* (Anura, Hylodidae). *Biotemas*. **27(4)**: 93-99.
- Narins, P.M., Smith, S.L. (1986): Clinal variation in anuran advertisement calls: basis for acoustic isolation? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **19**: 135-141.
- Narins, P.M., Feng, A.S., Lin, W., Schnitzler, H., Denzinger, A., Suthers, R.A., Xu, C. (2013): Old world frog and bird vocalizations contain prominent ultrasonic harmonics. *J. Acoust. Soc. Am.* **115(2)**: 910-913.
- Narvaes, P., Rodrigues, M.T. (2005). Visual communication, reproductive behavior, and home range of *Hylodes dactylocinus* (Anura, Leptodactylidae). *Phyllomedusa*. **4(2)**: 147-158.
- Nascimento, L.B., Pombal Jr., J.P., Haddad, C.F.B. (2001): A new frog of the genus *Hylodes* (Amphibia: Leptodactylidae) from Minas Gerais, Brazil. *J. Zool.* **254**: 421-428.
- Niven, J.E., Laughlin, S.B. (2008): Energy limitation as a selective pressure on the evolution of sensory systems. *J. Exp. Biol.* **211**: 1792-1804.
- Nunes-de-Almeida, C.H.L., Assis, C.L., Feio, R.N., Toledo, L.F. (2016): Redescription of the advertisement call of five species of *Thoropa* (Anura, Cycloramphidae),

including recordings of rare and endangered species. PLoS ONE. **11(9)**: e0162617.

- Page, R.A., Ryan, M.J. (2008): The effect of signal complexity on localization performance in bats that localize frog calls. Anim. Behav. **76**: 761e769
- Pavan, D., Narvaes, P., Rodrigues, M.T. (2001): A new species of Leptodactylidae frog from the Atlantic forests of southeastern Brazil with notes on the status and on the speciation of the *Hylodes* species groups. Pap. Avulsos de Zool. **4(23)**: 407-425.
- Parris, K.M., Velik-Lord, M., North, J.M.A. (2009): Frogs call at a higher pitch in traffic noise. Ecol. Soc. **14(1)**: 25.
- Pirani, R.M., Mângia, S., Santan, D.J., Assim, B., Feio, R.N. (2010): Rediscovery, distribution extension and natural history notes of *Hylodes babax* (Anura, Hylodidae) with comments on southeastern Brazil biogeography. S. Am. J. Herpetol. **5(2)**: 83-88.
- Pombal Jr., J.P., Sazima, I., Haddad, C.F.B. (1994): Breeding behavior of the pumpkin toadlet, *Brachycephalus ephippium* (Brachycephalidae). J. Herpetol. **28(4)**: 516-519.
- Pombal Jr., J.P., Feio, R.N., Haddad, C.F.B. (2002): A new species of torrent frog genus *Hylodes* (Anura: Leptodactylidae) from southeastern Brazil. Herpetologica. **58(4)**: 462–471.
- Pombal Jr., J.P., Prado, G.M., Canedo, C. (2003): A new species of giant torrent frog, genus *Megaelosia*, from the Atlantic rain forest of Espírito Santo, Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). J. Herpetol. **37**: 453–460.
- Prado, C.P.A., Haddad, C.F.B. (2005): Size-fecundity relationships and reproductive investment in female frogs in the Pantanal, South-western Brazil. Herpetol. J. **15**: 181-189.

- Preininger, D., Boeckle, M., Hödl, W. (2009): Communication in noisy environments II: visual signaling behavior of male foot-flagging frogs *Staurois latopalmatus*. *Herpetologica*. **65**(2): 166-173.
- Pröhl, H. (2005): Territorial behavior in dendrobatid Frogs. *J. Herpetol.* **39**(3): 354-365.
- Pyron, R.A. (2014): Biogeographic analysis reveals ancient continental vicariance and recent oceanic dispersal in amphibians. *Syst. Biol.* **63**(5): 779-797.
- Robertson, J.G.M. (1986): Male territoriality, fighting and assessment of fighting ability in the Australian frog *Uperoleia rugosa*. *Anim Behav.* **34**: 763-772.
- Roithmair, M.E. (1992): Territoriality and male mating success in the dart-poison frog, *Epipedobates fernoralis* (Dendrobatidae, Anura). *Ethology*. **92**: 331-343.
- Ryan, M.J., Tuttle, M.D., Taft, L.K. (1981): The costs and benefits of frog chorusing behavior. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **8**: 273-278.
- Ryan, M.J., Tuttle, M.D., Rand, S. (1982): Bat predation and sexual advertisement in a Neotropical anuran. *Am. Nat.* **119**(1): 136-139.
- Santos, P.S., Silva, E.T., Felhberg, B.H., Santos, T.T., Garcia, P.C.A. (2011): Amphibia, Anura, Hylodidae, *Megaelosia apuana* Pombal, Prado and Canedo, 2003: Distribution extension, new state record and geographic distribution map. *Check list*. **7**: 394-396.
- Sazima, I., Bokermann, W.C.A. (1982): Anfíbios da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. 5: *Hylodes otavioi* sp. n. (Anura, Leptodactylidae). *Rev. Brasil. Biol.* **42**(4): 767-771.
- Shine, R. (1979): Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia*. **2**: 297-306.
- Shine, R. (1989): Ecological causes for the evolution of sexual dimorphism: a review of the evidence. *Q. Rev. Biol.* **64**(4): 419-461.

- Silva, H.R., Benmaman, P. (2008): Uma nova espécie de *Hylodes* Fitzinger da Serra da Mantiqueira, Minas Gerais, Brasil (Anura: Hylodidae). *Rev. Bras. Zool.* **25**(1): 89–99.
- Suthers, R.A., Narins, P.M., Lin, W., Schnitzler, H., Denzinger, A., Xu, C., Feng, A.S. (2006): Voices of the dead: complex nonlinear vocal signals from the larynx of an ultrasonic frog. *J. Exp. Bio.* **209**: 4984–4993.
- Toledo, L.F., Araújo, O.G.S., Guimarães, L.D., Liganau, R., Haddad, C.F.B. (2007): Visual and acoustic signaling in three species of Brazilian nocturnal tree frogs (Anura; Hylidae). *Phyllomedusa*. **6**(1): 61–68.
- Toledo, L.F., Haddad, C.F.B. (2009): Defensive vocalizations of neotropical anurans. *S. Am. J. Herpetol.* **4**(1): 25–42.
- Tsuji, H., Matsui, M. (2002): Male-male combat and head morphology in a fanged frog (*Rana kuhlii*) from Taiwan. *J. Herpetol.* **36**(3): 520–526.
- Vargas-Salinas F., Amézquita, A. (2013): Abiotic noise, call frequency and stream-breeding anuran assemblages. *Evol. Ecol.* **28**: 341–359.
- Vézina, A.F. (1985): Empirical relationships between predator and prey size among terrestrial vertebrate predators. *Oecologia*. **67**: 555–565.
- Vielliard, J.M.E., Cardoso, A.J. (1996): Adaptação de sinais sonoros de anfíbios e aves a ambientes de riachos com corredeira. In: *Herpetologia neotropical. Acta Del II Congresso Latino Americano de Herpetologia*, Universidad de Los Andes, p. 97–119. Pefaur, J.E. Consejo de Desarrollo, Humanístico y Tecnológico, Merida, Venezuela.
- Wells, K.D. (1977): The social behaviour of anuran amphibians. *Ani. Behav.* **25**: 666–693.

- Wells, K.D. (2007): The Ecology and Behavior of Amphibians. The University of Chicago Press. Chicago and London.
- Weygoldt, P., Carvalho-e-Silva, S.P. (1992): Mating and oviposition in the hylodine frog *Crossodactylus gaudichaudii* (Anura: Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia*. **13**: 35-45.
- Wilczynski, W., Chu, J. (2001): Acoustic Communication, Endocrine Control, and the Neurochemical Systems of the Brain. In: Anuran Communication, p 23-35. Ryan, M. J., Smithsonian Institution Press. Washington and London.

Capítulo 3

- Almeida-Gomes, M., Hatano, F.H., Sluys, M.V., Rocha, C.F.D. (2007): Diet and microhabitat use by two Hylodinae species (Anura, Cycloramphidae) living in sympatry and syntopy in a Brazilian Atlantic Rainforest area. *Iheringia, Série Zoologia* **97**: 27-30.
- Augusto-Alves, G.; Dena, S. A. & Toledo, L. F. 2018. Visual communication and aggressive behaviour in a giant mute torrent-frog, *Megaelosia apuana* (Anura; Hylodidae). *Amphibia-Reptilia*, **39(2)**: 260-264.
- Ballinger, A., Lake, P.C. (2006): Energy and nutrient fluxes from rivers and streams into terrestrial food webs. *Marine and Freshwater Research* **57**: 15-28.
- Caldart, V.M., Iop, S., Bertaso, T.R.N., Cechin, S.Z. (2012): Feeding Ecology of *Crossodactylus schmidtii* (Anura: Hylodidae) in Southern Brazil. *Zoological Studies* **4**: 484-493.
- de Sá, F.P., Zina, J., Haddad, C.F.B. (2016): Sophisticated communication in the brazilian torrent frog *Hylodes japi*. *PLoS ONE* **11**: e0145444.

- Giaretta, A.A., Bokermann, W.C.A., Haddad, C.F.B. (1993): A review of the genus *Megaelosia* (Anura: Leptodactylidae) with a description of a new species. *Journal of Herpetology* **27**: 276-285.
- Giaretta, A.A., Aguiar, O., Jr. (1998) A new species of *Megaelosia* from the Mantiqueira range, south-eastern Brazil. *Journal of Herpetology* **32**: 80-83.
- Lutz, A. (1930): Observações sobre batrachios brasileiros. *Taxonomia e biologia das Eloisiinas*. *Memórias do Instituto Osvaldo Cruz* **4**: 195-222.
- Machado, A.O., Winck, G., Dorigo, T.A., Rocha, C.F.D. (2016): Diet, diel activity pattern, habitat use, and reproductive effort of *Hylodes nasus* (Anura: Hylodidae) in one of the world's largest urban parks (Tijuca National Park), southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology* **11**: 127–135.
- Haddad, C.F.B., Giaretta, A.A. (1999): Visual and acoustic communication in the brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica* **55**: 324-333.
- Haddad, C.F.B., Toledo, L.F., Prado, C.P.A., Loebmann, D., Gasparini, J.L., Sazima, I. (2013): *Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica - Diversidade e Biologia*. Anolis Books Editora, 1nd Edition. São Paulo, Brazil, Academic Press.
- Lignau, R., Canedo, C., Pombal, J. P., Jr. (2008): A New Species of *Hylodes* (Anura: Hylodidae) from the Brazilian Atlantic Forest. *Copeia* **3**: 595–602.
- Peloso, P.L.V., Pavan, S.E. (2007): Natural history notes. *Megaelosia apuana*. *Prey. Herpetological Review* **38**: 188.

- Pombal, J.P., Jr., Prado, G.M., Canedo, C. (2003): A new species of giant torrent frog, genus *Megaelosia*, from the Atlantic rain forest of Espírito Santo, Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). *Journal of Herpetology* **37**: 453–460.
- Santos, P. S. (2013): Herpetofauna do Corredor Sossego-Caratinga, Mata Atlântica no sudeste do Brasil: estrutura das comunidades e influência da paisagem. Unpublished PhD thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil.
- Weygoldt, P., Carvalho e Silva, S.P. (1992): Mating and ovoposition in the hylodine frog *Crossodactylus gaudichaudii* (Anura: Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia* **13**: 35-45.

ANEXOS

Anexo I – Licença de coleta: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio #52352-2).



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 52352-2	Data da Emissão: 04/11/2016 08:50	Data para Revalidação*: 04/12/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: GUILHERME AUGUSTO ALVES	CPF: 401.739.638-03
Título do Projeto: Autoecologia de Megaelosia apuana (Anura: Hyloidae), com enfoque à biologia reprodutiva	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	CNPJ: 46.068.425/0001-33

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta em campo	01/2016	02/2016
2	Coleta em campo	04/2016	04/2016
3	Coleta em campo	07/2016	07/2016
4	Coleta em campo	10/2016	10/2016
5	Coleta em campo	12/2016	12/2016
6	Coleta em campo	01/2017	01/2017
7	Defesa da dissertação e fim da atividade	02/2018	12/2018

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	Encaminhar o resultado da pesquisa após concluída para a administração do Parna Caparaó, na forma impressa e na forma digital.
---	--

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		MG	PARQUE NACIONAL DE CAPARAÓ	UC Federal

Atividades X Táxons

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 51229448



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 52352-2	Data da Emissão: 04/11/2016 08:50	Data para Revalidação*: 04/12/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: GUILHERME AUGUSTO ALVES	CPF: 401.739.638-03
Título do Projeto: Autoecologia de Megaelosia apuana (Anura: Hylodidae), com enfoque à biologia reprodutiva	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	CNPJ: 46.068.425/0001-33

#	Atividade	Taxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Megaelosia apuana
2	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Megaelosia apuana (*Qtde: 10)
3	Observação e gravação de imagem ou som de taxon em UC federal	Megaelosia apuana

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Anfíbios)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça/osso/pele, Ovos
2	Método de captura/coleta (Anfíbios)	Outros métodos de captura/coleta(Funil tipo covó), Peneira, Puçá, Captura manual

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 51229448



Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 52352-2	Data da Emissão: 04/11/2016 08:50	Data para Revalidação*: 04/12/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: GUILHERME AUGUSTO ALVES	CPF: 401.739.638-03
Título do Projeto: Autoecologia de Megaelosia apuana (Anura; Hylodidae), com enfoque à biologia reprodutiva	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	CNPJ: 46.068.425/0001-33

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.



Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 51229448



Página 3/3

Anexo II – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas (CEUA/Unicamp #4396-1).


CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **Autoecologia de Megaelosia apuana (Anura; Hylodidae), com enfoque em sua biologia reprodutiva**, registrada com o nº **4396-1**, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Luís Felipe de Toledo Ramos Pereira e Guilherme Augusto Alves**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, do **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo **Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)**, tendo sido aprovada pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em reunião de **03 de outubro de 2016**.


Finalidade:	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência do projeto:	15/10/2016-03/03/2018
Vigência da autorização para manipulação animal:	15/10/2016-03/03/2018
Espécie / linhagem/ raça:	Anfíbio / Megaelosia apuana (anura) - não há eutanásia
No. de animais:	100
Peso / Idade:	indiferente
Sexo:	indiferente
Origem:	Parque Nacional do Caparaó, MG

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao **IBAMA**, **SISBIO** ou **CIBio**.

Campinas, 03 de outubro de 2016.



Profa. Dra. Liana Maria Cardoso Verinaud
Presidente



Fátima Alonso
Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação de relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.

Anexo III – Resumo de trabalho apresentado no XI Congresso Latinoamericano de Herpetologia – PUCE, Ecuador.

Lost of acoustic communication, use of visual communication and aggressive behavior in *Megaelosia apuana* (Hylodidae)

Guilherme Augusto Alves, Simone Aparecida Dena, Luís Felipe Toledo

Institución primaria
Primary Institution Universidade Estadual de Campinas - Unicamp

Nombre del expositor
Presenter name Guilherme Augusto Alves alves.guilherme.augusto@gmail.

Vocalization is the most common form of communication among anurans. However, some species are mute and, therefore, visual, chemical and tactile signaling may replace the acoustic communication. One of the hypotheses for such loss is the pressure exerted by the background noise, which may overlap call frequencies. This is especially true for large species, which may not be able to produce high-pitched calls. The Hylodidae family, composed by 46 species, in three genera (*Crossodactylus*, *Hylodes* and *Megaelosia*) and inhabiting noisy streams, is, therefore, suitable for testing this hypothesis. *Crossodactylus* and *Hylodes* species, except for *H. vanzolinii*, emit advertisement calls, while all *Megaelosia* species are mute. The species of *Megaelosia* are much larger than those of the other genera. Thus, we monitored one population of *M. apuana* to confirm the possibility of visual communication and lack of vocal communication. Herein, we described the visual signaling of males of *M. apuana* and its aggressive behavior between two males in the Caparaó Nacional Park, Minas Gerais, Brazil. Moreover, we tested if the background noise may have influenced in the loss of acoustic communication by doing a Linear Regression between mean dominant frequencies of advertisement calls and SVL (snout-vent length) of *Hylodes* spp. (a sister genus to *Megaelosia*). The regression showed a negative relation ($F(1,19) = 11.49$; $r^2 = 0.37$; $P = 0.003$), that is, the higher the frequency, the smaller the animal size. Most species (exceptions: *H. dactylocinus* and *H. periplicatus*) called in frequencies above the background noise. The regression intersection between the SVL and mean dominant frequency occurred when the frog was approximately 7.5 cm in SVL. Therefore, a larger frog, such as all *Megaelosia* spp., would be affected by the stream noise. Thus, our study indicates that advertisement call loss in *Megaelosia* may have been due to their size and environmental background noise. The visual territoriality signaling and aggressive behavior between two males was observed in a lentic pool. The fight started with the visual signaling of the larger male, who inflated repeatedly (10 times) both lateral vocal sacs. After lacking the withdrawal of the smaller male, the physical combat began. These males bit each other's mouth and positioned their hand on the opponent shoulders. They remained in this position for 79 minutes, during which time the smaller male remained motionless while the larger alternated between immobile moments and fast lateral shakes. The fight ended with the smaller individual leaving the territory. No sound was emitted during the visual communication, neither during the physical combat. The territory defense using acoustic, visual, or multimodal signaling has been already described for other species of *Hylodes* and *Crossodactylus*. However, this is the first description of conspecific signaling for *Megaelosia*.

Palabras clave
Key Words Mute frog communication, background noise, visual signaling, territoriality.

Tipo de presentación
Type of presentation presentación oral

Área de estudio
Study Area Comportamiento-



Anexo IV – Resumo de trabalho apresentado no XI Congresso Latinoamericano de Herpetologia – PUCE, Ecuador.

Food items in the torrent frog *Megaelosia apuana* (Anura: Hylodidae)

Guilherme Augusto Alves, Luís Felipe de Toledo

Institución primaria
Primary Institution Universidade Estadual de Campinas - Unicamp

Nombre del expositor
Presenter name Guilherme Augusto Alves alves.guilherme.augusto@gmail.

The genus *Megaelosia* is endemic to the Atlantic Forest, and includes medium- to large-sized species associated with clear and cold streams occurring at elevations of at least 800 m. Species of this genus are rarely studied, because of their relatively low abundance, restricted distribution, and cryptic behaviour. They are also difficult to observe, as both males and females of all species are voiceless and skittish. Consequently, information on the natural history of the seven species of *Megaelosia* is scarce. Information of food items is known for a few individuals of *M. goeldii* and *M. massarti*, based on stomach contents and a disgorged bolus. The diets of these individuals were composed of arthropods, earthworms, and another stream-dwelling frog. Finally, there has been one report of an individual of *M. apuana* attempting to prey upon a *Proceratophrys boiei* but failing. While conducting a field study between October 2015 and January 2017 in the Parque Nacional do Caparaó, municipality of Alto Caparaó, state of Minas Gerais, Brazil, we filmed four adults of *Megaelosia apuana* while feeding. Five prey species were observed: an unidentified moth (Insecta; Lepidoptera); an unidentified firefly (Insecta; Coleoptera); *Limnocoris brasiliensis* (Insecta; Hemiptera); a fish, *Trichomycterus* sp. (Actinopterygii; Siluriformes; Trichomycteridae); a treefrog *Oedipina* sp. (Anura; Hylidae). Apparently, in all cases described here the individuals of *M. apuana* were visually oriented to detect and capture the prey. All observations occurred between 19:00 and 21:00, in the Caparaó river (20°25'10"S, 41°50'47"W, 1180 m a.s.l.). Food items of the diet of *M. apuana*, as well as those of *M. goeldii* and *M. massarti*, indicate that these species are generalists. Feeding ecology studies of other genera of family Hylodidae also indicate generalist habits. Thus, we suggest that a generalist diet is a shared characteristic among species of the family Hylodidae.

Palabras clave
Key Words Food ecology, prey, natural history, Hylodidae.

Tipo de presentación
Type of presentation póster

Área de estudio
Study Area Ecología



Herpetology Notes, volume 10: 535-536 (2017) (published online on 16 October 2017)

Food items of the rheophilic Torrent Frog *Megaelosia apuana* Pombal et al., 2003 (Anura, Hylodidae)

Guilherme Augusto Alves^{1,2,*} and Luis Felipe Toledo²

The genus *Megaelosia* Miranda-Ribeiro, 1923 (Anura, Hylodidae) is endemic to the Atlantic Forest, and includes medium- to large-sized species (adult male SVL 8–12 cm) associated with clear and cold streams occurring at elevations of at least 800 m (Giaretta et al., 1993; Giaretta and Aguiar, 1998; Haddad et al., 2013). Species of this genus are rarely studied because of their relatively low abundance, restricted distribution, and cryptic behaviour. They are also difficult to observe, as both males and females of all species are voiceless and skittish (Lutz, 1930; Giaretta et al., 1993; Pombal et al., 2003). Consequently, information on the natural history of the seven species of *Megaelosia* is scarce. Information of food items is known for a few individuals of *M. goeldii* (Baumann, 1912) and *M. massarti* (De Witte, 1930), based on stomach contents and a disgorged bolus (Giaretta et al., 1993). The diets of these individuals were composed of arthropods (cockroaches, beetles, caterpillars), earthworms, and vertebrates (another stream-dwelling frog, *Hylodes asper*). Additionally, predation was also observed on another anuran species (Hylidae, Hylodidae, Brachycephalidae) in a field experiment (Giaretta et al., 1993). Finally, there exists one report of an individual of *M. apuana* attempting and failing to prey upon a *Proceratophrys boiei* (Peloso and Pavan, 2007).

While conducting field research between October 2015 and January 2017 in the Parque Nacional do Caparaó, Alto Caparaó Municipality, Minas Gerais State, Brazil,

we filmed the feeding activity of four adult *M. apuana*. The images were obtained by screening a total of 40 h of video recorded using a GoPro Hero 3+ Black Edition and a Sony DCR-SR47 camera, which were positioned in front of the focal individual and set to record for two uninterrupted hours. Recordings were edited in a unique file and deposited in the video collection of the Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard, Zoology Museum “prof. Adão J. Cardoso”, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil (FNJV 1000373 – available online at <http://www2.ib.unicamp.br/fnjv/collection.php?fnjv=1000373>).

Five potential prey species were observed using the video. (1) An unidentified moth (Insecta, Lepidoptera) was seen on a twig when the frog approached, then jumped to eat it. (2) An unidentified firefly (Insecta, Coleoptera) fell in the water close to the frog, which quickly turned toward the prey and captured it. (3) An aquatic bug, *Limnocoris brasiliensis* (Insecta, Hemiptera) swam close to the frog, which quickly turned toward it and ate it. (4) The frog jumped into the water to pursue a fish, *Trichomycterus* sp. (Actinopterygii, Siluriformes, Trichomycteridae), that tried to swim under a rock; the fish was captured before it could escape. (5) A treefrog, *Oedipoda* sp. (Anura, Hylidae) sat in front of an adult *M. apuana*, which approached the prey and ate it. It appears that in all cases described the individuals of *M. apuana* were visually oriented when detecting and capturing the prey item. All observations occurred between 1900 h and 2100 h, in the Caparaó River (–20.4194°S, –41.8464°W, elevation 1180 m).

Food items in the diet of *M. apuana*, as well as those of *M. goeldii* and *M. massarti*, indicate that these species are generalists, as already suggested by Santos (2013). Feeding ecology studies of other species in the family Hylodidae also indicate generalist habits. For example, the diet of *Hylodes nasus* comprises Annelida, Arachnida, Chilopoda, Crustacea, Diplopoda, and Insecta (Machado et al., 2016), whereas the diet of *H. phyllodes* includes Arachnida, Chilopoda, Crustacea,

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo 13083-970, Brazil

² Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros, Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Rua Monteiro Lobato, 255 – Sala 19, Campinas, São Paulo 13083-862, Brazil

* Corresponding author e-mail:
alves.guilherme.augusto@gmail.com

and Insecta (Almeida-Gomes et al., 2007). The diet of *Crossodactylus gaudichaudii* is composed of Arachnida, Crustacea, Mollusca, and Insecta (Almeida-Gomes et al., 2007), and the diet of *C. schmidtii* featured Arachnida, Mollusca, and Insecta (Caldart et al., 2012). Thus, we suggest that a generalist diet is a shared characteristic among species of the family Hylodidae.

Many animals contribute to the energy flux between environments, for example by transferring resources from terrestrial to the aquatic systems, or vice-versa (Ballinger and Lake, 2006). Indeed, our observations suggest that post-metamorphic individuals of *M. apuana* promote energy transfer between terrestrial and aquatic systems, since they prey upon both aquatic and terrestrial animals.

During our observations, we noted a high level of site fidelity. The animals rarely abandoned the site where they were initially observed, and they were observed at the very same location for several consecutive nights (G.A. Alves, unpubl. data). Therefore, *M. apuana* may exhibit territoriality. Several studies have reported that species of the family Hylodidae will defend a site using acoustic or visual signals (Weygoldt and Carvalho e Silva, 1992; Haddad and Giaretta, 1999; Lingnau et al., 2008; de Sá et al., 2016). Most of these reports linked territoriality to a reproductive context. However, based on our observations, spacing between males in a stream could also guarantee a profitable feeding site. Consequently, territoriality in the family Hylodidae could also be related to feeding ecology as well as reproduction.

Acknowledgements. We thank Leandro Tacioli, Carolina Lambertini, Camila Zornosa Torres, Bruna Christina Dias, Luisa Ribeiro, and Alexandre Bertolazzi for their assistance during fieldwork, Flávio César Thadeo de Lima and Jean Carlo Mari Fanton for their assistance with the identification of organisms, and Anat Belasen and Camila Zornosa Torres for reviewing the English. We acknowledge the assistance of staff at the Parque Nacional do Caparaó and the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio for granting permission to access the park, and for providing logistic support for the research (SISBio #52352-2). GAA and LFT are grateful to the São Paulo Research Foundation (FAPESP #2014/23388-7) and to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq #300896/2016-6) for funding this project. GAA thanks the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for a fellowship.

References

Almeida-Gomes, M., Hatano, F.H., Sluys, M.V., Rocha, C.F.D. (2007): Diet and microhabitat use by two Hylodinae species

- (Anura, Cycloramphidae) living in sympatry and syntopy in a Brazilian Atlantic Rainforest area. *Iheringia, Série Zoologia* 97: 27–30.
- Ballinger, A., Lake, P.C. (2006): Energy and nutrient fluxes from rivers and streams into terrestrial food webs. *Marine and Freshwater Research* 57: 15–28.
- Caldart, V.M., Iop, S., Bertaso, T.R.N., Cechin, S.Z. (2012): Feeding ecology of *Crossodactylus schmidtii* (Anura: Hylodidae) in Southern Brazil. *Zoological Studies* 4: 484–493.
- de Sá, F.P., Zina, J., Haddad, C.F.B. (2016): Sophisticated communication in the Brazilian torrent frog *Hylodes japi*. *PLoS ONE* 11: e0145444.
- Giaretta, A.A., Bokermann, W.C.A., Haddad, C.F.B. (1993): A review of the genus *Megaelosia* (Anura: Leptodactylidae) with a description of a new species. *Journal of Herpetology* 27: 276–285.
- Giaretta, A.A., Aguiar, O., Jr. (1998): A new species of *Megaelosia* from the Mantiqueira Range, south-eastern Brazil. *Journal of Herpetology* 32: 80–83.
- Lutz, A. (1930): Observações sobre batrachios brasileiros. *Taxonomia e biologia das Eloisinas. Memórias do Instituto Osvaldo Cruz* 4: 195–222.
- Machado, A.O., Winck, G., Dorigo, T.A., Rocha, C.F.D. (2016): Diet, diel activity pattern, habitat use, and reproductive effort of *Hylodes nasus* (Anura: Hylodidae) in one of the world's largest urban parks (Tijuca National Park), southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology* 11: 127–135.
- Haddad, C.F.B., Giaretta, A.A. (1999): Visual and acoustic communication in the Brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica* 55: 324–333.
- Haddad, C.F.B., Toledo, L.F., Prado, C.P.A., Loebmann, D., Gasparini, J.L., Sazima, I. (2013): *Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica - Diversidade e Biologia*. Anolis Books Editora. São Paulo, Brazil, Academic Press.
- Lignau, R., Canedo, C., Pombal, J.P., Jr. (2008): A new species of *Hylodes* (Anura: Hylodidae) from the Brazilian Atlantic Forest. *Copeia* 3: 595–602.
- Peloso, P.L.V., Pavan, S.E. (2007): Natural history notes. *Megaelosia apuana*. *Prey. Herpetological Review* 38: 188.
- Pombal, J.P., Jr., Prado, G.M., Canedo, C. (2003): A new species of giant torrent frog, genus *Megaelosia*, from the Atlantic rain forest of Espírito Santo, Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). *Journal of Herpetology* 37: 453–460.
- Stebbins, R.C., Cohen, N.W. (1995): *A Natural History of Amphibians*. Princeton, New Jersey, USA, Princeton University Press.
- Santos, P.S. (2013): *Herpetofauna do Corredor Sossego-caratinga, Mata Atlântica no sudeste do Brasil: estrutura das comunidades e influência da paisagem*. Unpublished PhD thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil.
- Weygoldt, P., Carvalho e Silva, S.P. (1992): Mating and oviposition in the hylodine frog *Crossodactylus gaudichaudii* (Anura: Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia* 13: 35–45.

Accepted by Angelica Crottini

Visual communication and aggressive behaviour in a giant mute torrent-frog, *Megaelosia apuana* (Anura; Hylodidae)

Guilherme Augusto-Alves^{1,2,*}, Simone A. Dena³, Luís F. Toledo³

Abstract. Advertisement call is the most common signal used by anurans for intraspecific communication. However, some species have lost the ability to emit these vocalizations and are denoted as mute. Alternatively, these species may communicate by visual, tactile and chemical signals. The lack of advertisement call could be explained by the high background noise of breeding microhabitats. A model group to study alternative communication tactics is the genus *Megaelosia*, which is composed by seven mute species that inhabit noisy streams, and for which no information on intraspecific communication is available. We monitored a population of *M. apuana* and described its visual signalling during aggressive interactions between males. This interaction included visual signalling, physical combat, and the retreat of the smaller individual. No audible sound was detected during the whole aggressive interaction, reinforcing the genus muteness. This is the first report of any communication behaviour for the genus *Megaelosia*.

Keywords: agonistic interaction, mute frog communication, territoriality, throat display, visual signalling, vocal sacs.

Among the diverse anuran behavioural repertoire, intraspecific communication is the most studied aspect, specifically during the breeding season (Wells, 1977; 2007). During this activity, acoustic communication can be used for territorial defence, attraction of reproductive partners, and predator avoidance (Wilczynski and Chu, 2001; Wells, 2007; Köhler et al., 2017). Communication is therefore vital for survivorship and directly related to individual fitness. However, acoustic communication is not used by mute species. Mute anurans are those that do not have advertisement calls (Wells, 1977; Emerson and Inger, 1992). For these species, it is likely that alternative forms of communication, such

as visual, tactile and chemical, are used in reproductive and aggressive intraspecific interactions (e.g., Hödl and Amézquita, 2001; Lee and Waldman, 2002; Barros and Feio, 2011; Lipinski, Caldart and Iop, 2012).

Visual signalling may represent a complementary communication channel for species that breed in sites with high background noise (Hödl and Amézquita, 2001), since this environmental pressure could be related to the loss of advertisement call (Emerson and Inger, 1992). Indeed, visual communication is observed in unrelated species that breeds in environments with high background abiotic noise, such as *Atelopus limosus* (Bufonidae), *Crossodactylus gaudichaudii* (Hylodidae), *Litoria nannotis* (Hylidae), *Staurois parvus* (Ranidae), and *Taudactylus eungellensis* (Myobatrachidae) (Hödl and Amézquita, 2001).

The family Hylodidae includes three genera and 47 species (Frost, 2017) that inhabit noisy streams in Brazilian Atlantic Forest (Haddad et al., 2013). The species of the genera *Crossodactylus* and *Hylodes*, except for *H. vanzolinii*, present acoustic communication. Several cases of visual or bimodal (acoustic and visual communication concomitantly) communication, in reproductive or agonistic contexts, have also

1 - Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, São Paulo, Brazil

2 - Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros (LaHNAB), Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo 13083-862, Brazil

3 - Fonoteca Neotropical Jacques Viellard (FNJV), Museu de Zoologia Adão José Cardoso (ZUEC), Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, 13083-862, Brazil

*Corresponding author;

e-mail: alves.guilherme.augusto@gmail.com

been reported for both genera (Weygoldt and Carvalho-e-Silva, 1992; Haddad and Giaretta, 1999; Hödl and Amézquita, 2001; Narvaes and Rodrigues, 2005; Caldart, Iop and Cechin, 2014; de Sá, Zina and Haddad, 2016). In addition, philopatry is commonly observed in hyloid species, generally related to territoriality (Haddad and Giaretta, 1999; Nascimento, Pombal Jr. and Haddad, 2001; de Sá et al., 2015). On the other hand, all species of the genus *Megaelasia* are considered mute, since there is no information on the emission of advertisement calls (Lutz, 1930; Weygoldt and Carvalho-e-Silva, 1992; Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993; Pombal Jr., Prado and Canedo, 2003) and there is a species, *M. goeldii*, which does not have vocal slits or vocal sacs (Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993). To date, there have been no records of alternative communication strategies in *Megaelasia* species. Therefore, we investigated a species of the genus *Megaelasia*, *M. apuana*, to evaluate whether alternative (i.e., visual) communication is used by males to compensate for the lack of vocalization.

We conducted the study at Caparaó National Park (PNC), a conservation unit located in the states of Minas Gerais and Espírito Santo, southeastern Brazil. Sampling occurred at Caparaó river, Vale-Verde, municipality of Alto Caparaó, state of Minas Gerais (20°25'10" S, 41°50'47" W; about 1200 m a.s.l.). Fieldwork occurred between October 2015 and January 2017 and consisted of seven expeditions with a mean interval of two months between visits. Sampling occurred more frequently in the summer (period of the species highest activity). In total we conducted 56 days of sampling and 448 person-hours of active search (table S1). According to Pombal, Prado and Canedo (2003), *M. apuana* has strictly twilight/nocturnal activity. However, diurnal observations were also employed to evaluate whether the species exhibit daytime activity. The study was approved by Ethics Committee of the University of Campinas (CEUA/Unicamp#4396-1) and by Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio#52352-2).

We filmed focal individuals of *M. apuana* with a GoPro Hero 3+ Black Edition and a Sony DCR-SR47 coupled with red light illumination. Cameras were positioned in front of focal individuals and set to record for two uninterrupted hours. To verify the lack of vocalization in the species, an autonomous acoustic recorder Song Meter SM3 Acoustic (Wildlife Acoustics) was installed in the river's margin. Audio recordings were performed with a sampling rate of 24 kHz and 16-bit resolution. Audio files were screened in Raven Pro 1.4 (Cornell Lab of Ornithology, Bioacoustics

Research Program). In total, 40 hours of video and 54 hours of audio were recorded. Files were deposited in the video collection of the Fonoteca Neotropical Jacques Viellard, Zoology Museum "prof. Adão José Cardoso", Unicamp, Campinas, São Paulo (Aggressive behaviour and visual signalling file catalogue number FNJV-V 402).

To explore whether *M. apuana* present site fidelity we walked the total extension of the study area (approximately 300 m along the Caparaó river) daily, visiting all the spots with the presence of an adult individual, and verifying if the same individual remains in the same microhabitat for consecutive days. Finally, two *M. apuana* juvenile males (SVL 6.10 and 6.47 cm) were handled in the field to determine the ability of the species to emit distress calls. The test consisted of holding the individuals by the hind limbs and shaking them, as described by Toledo and Haddad (2009).

We observed an aggressive interaction between two adult *M. apuana* males during a territorial dispute. These males were found at 2015 h on 14 Jan 2017 (18.6°C air temperature; 70% of relative humidity) in a lentic pool (~1.5 m in diameter) in the Caparaó river margin. When our observation began, the males were already engaged in a physical combat, but immediately disengaged from each other after our initial approach. The larger individual (male L), moved to the pool margin, while the smaller male (approximately 80% of male L's size; hereafter male S) hid under a rock in the pool margin. After 14 minutes, male S returned to the margin pool. Male L quickly approached the pool's centre, approximately 50 cm from male S, and began displaying visual signals: male L expanded and retracted both vocal sacs concomitantly, for four times, with mean interval of 7.66 ± 2.56 s (5-10 s) between displays. Male L then approached male S and intensified the signalling, expanding and retracting the vocal sacs in a higher rate for six times, with a mean interval of 3.16 ± 0.41 s (3-4 s). The lateral vocal sacs have white dense pigmentation, contrasting with the predominant dark greyish green colour of the frog dorsum (fig. 1). It was not possible to observe whether male S also emitted visual signals in response. After signalling, male L approached male S and the physical combat began. The males bit each other's mouths (fig. 2) and positioned their front limbs on the opponent's shoulders. They remained in this posture

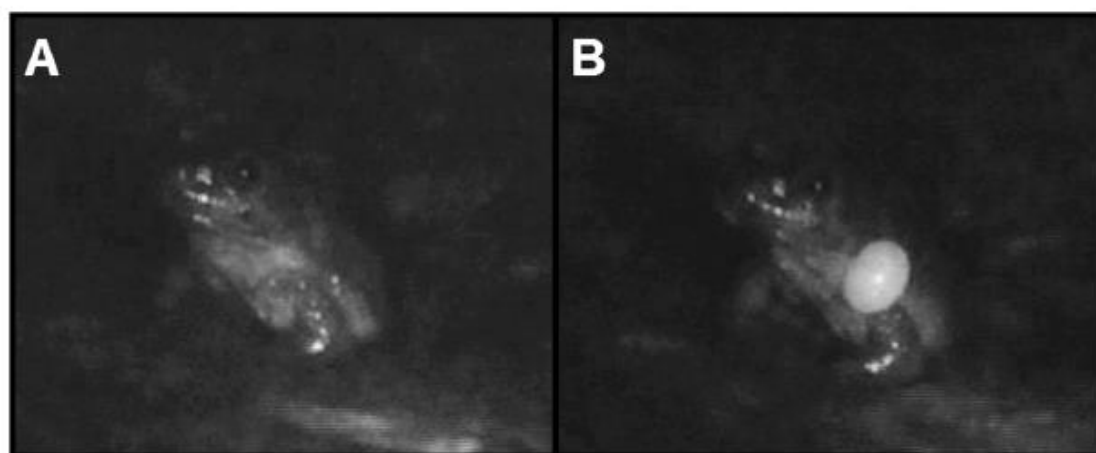


Figure 1. Visual signalling of *Megaelosia apuana*, recorded at Caparaó National Park, municipality of Alto Caparaó, state of Minas Gerais, Brazil; air temperature: 21.8°C. Adult male with both vocal sacs retracted (A) and expanded (B).



Figure 2. Aggressive behaviour of *Megaelosia apuana*. Details of the mouths of both males interweaved.

for 79 minutes. During this period male S remained motionless, while male L alternated between being motionless and engaging in fast lateral shakes. When they released one another, male S swam to the pool margin, while male L swam to the centre of the pool, climbed on a rock, and remained there until male S retreated.

No sound was emitted during the entire aggressive interaction, including the visual communication and the physical combat. We also did not record any type of vocalization for *M. apuana* in the recordings obtained either from the video cameras or from the autonomous recorders installed in river margins. Finally, no distress calls were emitted due to handling and shaking the two juvenile males.

Megaelosia apuana adult males showed site fidelity, using the same territories of activity and rest. We observed 11 males using the same sites for consecutive days (five of them were

reported using the same sites for 11 consecutive days).

Our study reinforces the suggestions that individuals of the genus *Megaelosia* are mute (Lutz, 1930; Giaretta, Bokermann and Haddad, 1993; Giaretta and Aguiar Jr., 1998). The only report of sound emission in this genus was based on three adult females of *M. boticariana* while being handled in the field (Giaretta and Aguiar Jr., 1998). Therefore, these calls are likely distress or release calls (Köhler et al., 2017), also observed in *Incilius periglenes*, *Leiopelma archeyi* and *L. pakeka*, others anurans that are mute (Jacobson and Vanderberg, 1991; Bell, 2010).

While it is possible that *M. apuana* make ultrasonic calls such as *Huia cavitympanum* and *Odorrana tormota* (Narins et al., 2004; Arch, Grafe and Narins, 2008), it is unlikely because they do not have the morphological specialization in the ears necessary to receive ultrasound (Augusto-Alves and Toledo, persn. observation).

Many diurnal anurans or those that breed in environments with high background noise also emit visual signals. Thus, it has been commonly suggested that high background noise and luminosity are related to the evolution of visual signalling (e.g., Haddad and Giaretta, 1999; Hödl and Amézquita, 2001; Narvaes and Rodrigues,

2005; Hirschmann and Hödl, 2006). On the other hand, visual communication among nocturnal anurans is also widely reported, but in a bimodal context. This is the first case reported of a nocturnal unimodal visual display. The throat display without sound associated is reported also for another hylodid species, *Hylodes japi* (de Sá et al., 2016), and a Tanzanian phrynobatrachid frog, *Phrynobatrachus krefftii* (Hirschmann and Hödl, 2006). Both are diurnal, inhabit streams, and are not mute. The visual display in *H. japi* is associated with territoriality, female attraction, and courtship (de Sá et al., 2016). In *P. krefftii* this behaviour is just associated with territoriality (Hirschmann and Hödl, 2006).

Anurans are the vertebrates with the highest visual capacity in low-light environments (Keller, Yovanovich and Olsson, 2016), allowing nocturnal visual communication. Despite their outstanding nocturnal sight, nocturnal visual signalling would be enhanced by the exhibition of contrasting colouration. Thus, the dense white colouration in the lateral vocal sacs of *M. apuana*, contrasted with the dark dorsal pattern (fig. 1), may facilitate the observed nocturnal visual communication. Vocal sacs are used in visual signalling in some *Hylodes* species as well (Haddad and Giaretta, 1999; Hartmann et al., 2005; de Sá, Zina and Haddad, 2016). In those species, vocal sacs are transparent and reflect sunlight during the day (fig. S1).

Our observations of the same individuals using the very same spots in the river for several days, and also returning to that place shortly after being disturbed, serves as evidence of philopatry (site fidelity) in *M. apuana*. We hypothesize the use of visual signalling in males of *M. apuana* as an advertising signal for territory defence against intruding conspecific males (see also Haddad and Giaretta, 1999; Nascimento, Pombal Jr. and Haddad 2001; Caldart, Iop and Cechin, 2014; de Sá, Zina and Haddad, 2016). These territories provide the resident male profitable feeding area (Alves and Toledo, 2017) and, probably, retreat and egg laying sites.

Concluding, we provided further information corroborating that *M. apuana* is mute and described for the first-time visual signalling and aggressive behaviour for the genus *Megaelosia*. Furthermore, we believe that additional field observations are necessary to test if throat display in the genus *Megaelosia* is also used for female attraction.

Acknowledgements. We thank L. Tacioli, C. Lambertini, C. Torres, B. Dias, L. Ribeiro and A. Bertolazzi for helping during fieldwork; P. Andrade for the artistic line-draw and L. Tacioli for video edition. Caparaó National Park and Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), for the granted access to the park, development and logistic support for the research (SISBio #52352-2); GAA and LFT are grateful to the São Paulo Research Foundation (FAPESP #2014/23388-7; #2016/25358-3), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq #300896/2016-6), and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for grants and fellowships.

References

- Alves, G.A., Toledo, L.F. (2017): Food items in the rheophilic Torrent Frog *Megaelosia apuana* Pombal et al., 2003 (Anura; Hylodidae). *Herpetol. Notes* **10**: 535-536.
- Arch, V.S., Grafe, T.U., Narins, P.M. (2008): Ultrasonic signalling by a Bornean frog. *Biol. Lett.* **4**: 19-22.
- Barros, A.B., Feio, R.N. (2011): Visual communication in *Scinax maracaya* (Cardoso & Sazima, 1980) (Anura: Hylidae) at the Serra da Canastra National Park, south-eastern Brazil. *Herpetol. Notes* **4**: 103-104.
- Bell, B. (2010): The threatened leiopelmatid frogs of New Zealand: natural history integrates with conservation. *Herpetol. Conserv. Bio.* **5** (3): 515-528.
- Caldart, V.M., Iop, S., Cechin, S.Z. (2014): Social interactions in a Neotropical stream frog reveal a complex repertoire of visual signals and the use of multimodal communication. *Behaviour* **151**: 719-739.
- de Sá, F.P., Canedo, C., Lyra, M.L., Haddad, C.F.B. (2015): A new species of *Hylodes* (Anura, Hylodidae) and its secretive underwater breeding behavior. *Herpetologica* **71** (1): 58-71.
- de Sá, F.P., Zina, J., Haddad, C.F.B. (2016): Sophisticated communication in the Brazilian torrent frog *Hylodes japi*. *PLoS ONE* **11** (1): e0145444.
- Emerson, S.B., Inger, R.F. (1992): The comparative ecology of voiced and voiceless Bornean. *J. Herpetol.* **26** (4): 482-490.
- Frost, D.R. (2017): *Amphibian Species of the World: an online reference*. Version 6.0. Electronic database accessible at American Museum of Natural History,

- New York, USA. <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Downloaded on 30 Jun 2017.
- Giaretta, A.A., Aguiar Jr., O. (1998): A new species of *Megaelosia* from the Mantiqueira range, south-eastern Brazil. *J. Herpetol.* **32** (1): 80-83.
- Giaretta, A.A., Bokermann, W.C.A., Haddad, C.F.B. (1993): A review of the genus *Megaelosia* (Anura: Leptodactylidae) with a description of a new species. *J. Herpetol.* **27**: 276-285.
- Haddad, C.F.B., Giaretta, A.A. (1999): Visual and acoustic communication in the Brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica* **55** (3): 324-333.
- Haddad, C.F.B., Pombal Jr., J.P. (1995): A new species of *Hylodes* from southeastern Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). *Herpetologica* **51** (3): 279-286.
- Haddad, C.F.B., Toledo, L.F., Prado, C.P.A., Loebmann, D., Gasparini, J.L., Sazima, I. (2013): *Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica – Diversidade e Biologia*, 1st Edition. Anolis Books Editora.
- Hartmann, M.T., Giasson, L.O.M., Hartmann, P.A., Haddad, C.F.B. (2005): Visual communication in Brazilian species of anurans from the Atlantic forest. *J. Nat. Hist.* **39** (19): 1675-1685.
- Hirschmann, W., Hödl, W. (2006): Visual signaling in *Phrynobatrachus krefftii* Boulenger, 1909 (Anura: Ranidae). *Herpetologica* **62** (1): 18-27.
- Hödl, W., Amézquita, A. (2001): Visual signaling in anuran amphibians. In: *Anuran Communication*, p. 121-141. Ryan, M.J., Ed., Smithsonian Institution Press, Washington and London.
- Jacobson, S.K., Vanderberg, J.J. (1991): Reproductive ecology of the endangered golden toad (*Bufo perigrinus*). *J. Herpetol.* **25** (3): 321-327.
- Kelber, A., Yovanovich, C., Olsson, P. (2016): Thresholds and noise limitations of colour vision in dim light. *Phil. Trans. R. Soc. B* **372**: 20160065.
- Köhler, J., Jansen, M., Rodríguez, A., Kok, P.J.R., Toledo, L.F., Emmrich, M., Glaw, F., Haddad, C.F.B., Rödel, M.O., Vences, M. (2017): The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa* **4251** (1): 001-124.
- Lee, J.S.F., Waldman, B. (2002): Communication by fecal chemosignals in an archaic frog, *Leiopelma hamiltoni*. *Copeia* **3**: 679-686.
- Lipinski, V.M., Caldart, V.M., Iop, S. (2012): Visual communication in *Hypsiboas curupi* (Anura: Hylidae) at Parque Estadual do Turvo, southern Brazil. *Phyllomedusa* **11** (1): 71-74.
- Lutz, A. (1930): Observações sobre batrachios brasileiros. In: *Taxonomia e Biologia das Eloisinas*, p. 195-222. Instituto Osvaldo Cruz, Rio de Janeiro.
- Narins, P.M., Feng, A.S., Lin, W., Schnitzler, H., Denzinger, A., Suthers, R.A., Xu, C. (2004): Old world frog and bird vocalizations contain prominent ultrasonic harmonics. *J. Acoust. Soc. Am.* **115** (2): 910-913.
- Narvaes, P., Rodrigues, M.T. (2005): Visual communication, reproductive behavior, and home range of *Hylodes dactylocinus* (Anura, Leptodactylidae). *Phyllomedusa* **4** (2): 147-158.
- Nascimento, L.B., Pombal Jr., J.P., Haddad, C.F.B. (2001): A new frog of the genus *Hylodes* (Amphibia: Leptodactylidae) from Minas Gerais, Brazil. *J. Zool.* **254**: 421-428.
- Pombal Jr., J.P., Prado, G.M., Canedo, C. (2003): A new species of giant torrent frog, genus *Megaelosia*, from the Atlantic rain forest of Espírito Santo, Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). *J. Herpetol.* **37**: 453-460.
- Toledo, L.F., Haddad, C.F.B. (2009): Defensive vocalizations of Neotropical anurans. *S. Am. J. Herpetol.* **4** (1): 25-42.
- Wells, K.D. (2007): *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago and London.
- Weygoldt, P., Carvalho-e-Silva, S.P. (1992): Mating and oviposition in the hylodine frog *Crossodactylus gaudichaudii* (Anura: Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia* **13**: 35-45.
- Wilczynski, W., Chu, J. (2001): Acoustic communication, endocrine control, and the neurochemical systems of the brain. In: *Anuran Communication*, p. 23-35. Ryan, M.J., Ed., Smithsonian Institution Press, Washington and London.

Submitted: February 1, 2018. Final revision received: March 8, 2018. Accepted: March 19, 2018.
Associate Editor: Caitlin Gabor.

Anexo VII - Declaração Bioética e Biossegurança.**DECLARAÇÃO**

Em observância ao **§5º do Artigo 1º da Informação CCPC-UNICAMP/001/15**, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Dissertação de Mestrado, intitulada “***Autoecologia de Megaelosia apuana (Anura; Hylodidae)***”, desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura: _____

Nome do(a) aluno(a): Guilherme Augusto Alves

Assinatura: _____

Nome do(a) orientador(a): Dr. Luís Felipe de Toledo Ramos Pereira

Data: 08/06/2018

Anexo VIII - Declaração de Direitos Autorais.**Declaração**

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **Autoecologia de Megaelosia apuana (Anura; Hylodidae)**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 08/06/2018

Assinatura: _____

Nome do(a) autor(a): **Guilherme Augusto Alves**

RG n.º 36.011.933-5

Assinatura: _____

Nome do(a) orientador(a): **Dr. Luís Felipe de Toledo Ramos Pereira**

RG n.º 28.465.361-5